

高效液相色谱法测定鼻渊舒颗粒中栀子苷的含量

万军

(西南交通大学生命科学与工程学院, 成都 610031)

[摘要] 目的: 建立高效液相色谱法测定鼻渊舒颗粒中栀子苷含量的方法。方法: 采用 Kromasil C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相甲醇-0.2% 磷酸溶液 (30:70), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 238 nm, 柱温 35 ℃。结果: 栀子苷在 0.04 ~ 0.51 μg (r = 0.999 9), 线性关系良好。平均回收率 100.35% (n = 5), RSD 1.31%。结论: 方法分离度好, 快速、简便, 适用于鼻渊舒颗粒中栀子苷的含量测定, 可作为产品的质量控方法。

[关键词] 高效液相色谱; 鼻渊舒颗粒; 栀子苷

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)19-0078-03

Determination of Geniposide in Biyuanshu Granules by HPLC

WAN Jun

(Life Science & Engineering College of South-west Jiao-tong University, Chengdu 610031, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a HPLC method for determination of geniposide in Biyuanshu granules. **Method:** The Kromasil C₁₈ column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) was used, and mobile phase was composed of CH₃OH-0.2% H₃PO₄ (30:70). Detection wavelength was at 238 nm, the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, column temperature was at 35 ℃. **Result:** The linear response range was from 0.04-0.51 μg (r = 0.999 9). The recovery rate was 100.35% (n = 5), RSD was 1.31%. **Conclusion:** The HPLC method is simple, accurate, and suitable for the determination of geniposide in Biyuanshu granules.

[Key words] HPLC; Biyuanshu granules; geniposide

[收稿日期] 20101125(001)

[基金项目] 中央高校基本科研业务费专项资金项目 (SWJTU09BR220, SWJTU09ZT29)

[第一作者] 万军, 讲师, 博士, 从事中药新药研究与教学工作, E-mail: wwangyidi@126.com

【参考文献】

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010: 30.
- [2] 陈钟, 卢树杰, 张维库, 等. HPLC 测定山楂叶总黄酮中牡荆素鼠李糖苷含量[J]. 中成药, 2009, 31(10): 1615.
- [3] 高婷, 曹阳, 贾凌云, 等. HPLC 法测定 14 个地区山楂中羽扇豆醇的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2010, 27(5): 373.
- [4] 许正斌, 高奎斌, 许双贵. 山楂叶综述[J]. 中医药学报, 1985(4): 49.
- [5] 丁杏苞, 姜岩青, 仲英, 等. 山楂叶化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 1990, 15(5): 39.
- [6] 张培成, 徐绥绪. 山楂叶中新黄酮化合物的分离与结构鉴定[J]. 中国药物化学志, 1999, 9(3): 214.
- [7] 张培成, 徐绥绪. 山楂叶化学成分研究[J]. 药学学报, 2001, 36(10): 754.
- [8] 刘荣华, 余伯阳, 邱声祥, 等. 山楂叶中主要多元酚类成分的 HPLC 法比较分析[J]. 中国天然药物, 2005, 3(3): 167.
- [9] 李晓玲, 张小民. 山楂叶的营养及开发价值[J]. 山西林业, 2005(1): 21.

[责任编辑 蔡仲德]

鼻渊舒颗粒由辛夷、苍耳子、栀子、黄芩、黄芪等13味药组成,原剂型为胶囊剂,收载于《新药转正标准》(29册),具疏风清热、祛湿通窍之功效,临床用于急性鼻炎肺经风热证及急性鼻窦炎胆腑郁热证。栀子为方中主药,栀子中主要有效成分为栀子苷。为更好地控制鼻渊舒颗粒的质量,本文采用高效液相色谱法测定鼻渊舒颗粒中栀子苷的含量^[1-2],并进行了系统的方法学研究,结果表明该方法分离度高,重复性好。

1 仪器与试药

岛津公司 LC-2010A 高效液相色谱仪,SPD-M10Avp 二极管阵列检测器,CLASS-VP 色谱工作站,sartoriusBP211D 电子天平(北京赛多利斯天平有限公司)。autoscienceAS5150A 超声波清洗器,TGL-16G 高速离心机。

栀子苷对照品(110749-200714,供含量测定用,中国药品生物制品检定所);甲醇为色谱纯,水为重蒸馏水,其余试剂为分析纯。鼻渊舒颗粒(批号100901,100902,101001,101002,101003)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 Kromasil C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm),流动相 甲醇-0.2% 磷酸溶液 (30:70),流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 35 °C,检测波长 238 nm。栀子苷峰与相邻峰的分离度 > 1.5,峰形对称,理论板数以栀子苷峰计算不低于 5 000。缺栀子苷阴性对照无干扰。见图 1。

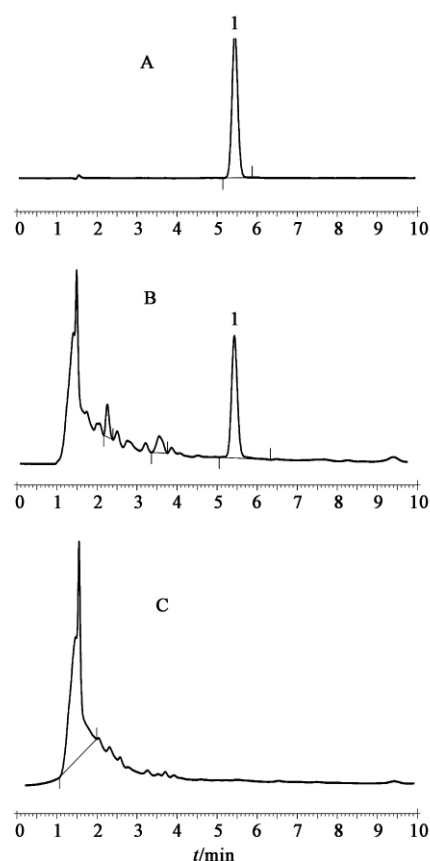
2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取栀子苷对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含 80 μg 的溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品,研细,取 0.25 g,精密称定,置 100 mL 量瓶中,加甲醇-水(1:1)适量,超声处理 15 min,放冷,用甲醇-水(1:1)稀释至刻度,摇匀,取续滤液,离心,即得。

2.2.3 缺栀子苷阴性对照溶液的制备 取缺栀子苷阴性对照样品,按供试品溶液的制备方法制备,即得。

2.3 线性关系 精密称取栀子苷对照品适量,置 25 mL 量瓶中,加甲醇制成每 1 mL 含栀子苷 0.85 mg 的溶液,再精密量取 1 mL 到 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液(0.085 g·L⁻¹),分别精密吸取对照品溶液 0.5,1,2,4,6 μL,按 2.1 项下色谱条件进行分析,测定峰面积,以进样量 X



A. 对照品; B. 样品; C. 阴性对照; 1. 栀子苷

图1 鼻渊舒颗粒 HPLC

(μg) 对峰面积 Y 进行线性回归,得回归方程 $Y = 7.5921 \times 10^3 + 1.3022 \times 10^6 X$ ($r = 0.9999$),栀子苷在 0.04 ~ 0.51 μg 呈良好的线性。

2.4 精密度试验 分别精密吸取供试品(批号 100901)溶液 10 μL,按上述色谱条件连续进样 5 次,测定峰面积,经计算其 RSD 0.95%。

2.5 稳定性试验 取样品(批号 100901)适量,按供试品液制备方法制备供试液,于 0,2,4,8,16 h 分别精密吸取 10 μL,按上述色谱条件测定,考察样品稳定性。结果表明供试品溶液在 16 h 内测定基本稳定, RSD 1.35%。

2.6 重复性试验 取样品(批号 100901) 0.25 g 共 5 份,按样品分析方法进行测定,测得平均质量分数为 5.37 mg·g⁻¹, RSD 0.85%,表明该方法重复性良好。

2.7 加样回收率试验 取样品(批号 100901)适量 5 份,分别加入一定量的栀子苷对照品(0.1514

$\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 4 mL, 按样品分析方法进行处理, 并各平行测定 2 次, 见表 1。

表 1 栀子苷含量测定加样回收率试验

No.	称样量 /g	样品中 含量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	0.124 9	0.670 7	0.605 6	1.280 3	100.70	100.35	1.31
2	0.125 1	0.671 8	0.605 6	1.275 2	99.64		
3	0.125 4	0.673 4	0.605 6	1.293 3	102.40		
4	0.124 7	0.669 6	0.605 6	1.276 5	100.20		
5	0.125 6	0.674 5	0.605 6	1.273 1	98.86		

3 样品测定

按上述色谱条件, 对 5 批样品 (批号 100901, 100902, 101001, 101002, 101003) 进行测定, 结果鼻渊舒颗粒中栀子苷质量分数分别为 5.37, 5.28, 5.07, 5.16, 5.12 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

4 讨论

4.1 检测波长的选择 曾对栀子苷对照品及供试品色谱中栀子苷峰在 SPD-M10Avp 二极管阵列检测器进行扫描 (190 ~ 370 nm), 结果二者均在 238 nm 波长处有最大吸收, 试验选择 238 nm 作为检测波长。

4.2 流动相的选择 曾以甲醇-0.2% 磷酸 (30:70)、甲醇-水 (25:75) 为流动相^[3-4], 流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 以 Kromasil C_{18} (4.6 mm $\times$ 150 mm, 5 μm) 柱为分析柱, 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$ 进行试验, 结果发现前者栀子苷峰已达基线分离, 峰形对称; 缺栀子阴性对照样品无干扰, 而后者未达到满意的分离效果。实验最终选用甲醇-0.2% 磷酸 (30:70) 为流动相, 流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$ 。

4.3 分析柱的选择 曾用 Diamonsil (钻石) C_{18} 柱 (4.6 mm $\times$ 150 mm, 5 μm) 与 Kromasil C_{18} (4.6 mm $\times$

150 mm, 5 μm) 柱, 以甲醇-0.2% 磷酸 (30:70) 为流动相, 二者均达到满意的分离效果, 栀子苷峰与相邻峰分离度 > 1.5 , 理论塔板数以栀子苷峰计算均大于 5 000。方法学研究实验选用 Kromasil C_{18} (4.6 mm $\times$ 150 mm, 5 μm) 色谱柱。

4.4 提取条件的选择 供试液制备中, 对提取溶剂 [甲醇、乙醇、甲醇-水 (1:1)、80% 甲醇], 提取时间 (10, 15, 20 min) 进行了考察。结果用甲醇-水 (1:1) 超声处理 15 min 为最佳提取条件。

[参考文献]

- [1] 蓝鸣生, 陈路, 覃成芳, 等. 五淋散胶囊中栀子苷和芍药苷的 HPLC 含量测定 [J]. 中国新药杂志, 2010, 19 (14): 1281.
- [2] 张卫华, 聂其霞, 张保献. 黄连解毒凝剂的定量方法研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16 (4): 56.
- [3] 韩杰. HPLC 测定清开灵颗粒中黄芩苷、栀子苷及胆酸、猪去氧胆酸的含量 [J]. 中成药, 2010, 32 (2): 227.
- [4] 贺建华, 鲍芳, 郑蕊, 等. 郁舒颗粒的质量标准研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16 (2): 34.

[责任编辑 蔡仲德]