

HPLC 法测定脑心清颗粒中山柰素的含量

杨文, 沙东旭¹, 段立爽 (辽宁省葫芦岛市药品检验所, 葫芦岛 125000; ¹ 辽宁省药品检验所)

摘要: 目的 建立用 HPLC 法测定脑心清颗粒中山柰素含量的方法。方法 采用 Diamonsil C18 色谱柱, 流动相为甲醇-水-磷酸 (55: 45: 0.2), 检测波长为 365nm, 流速为 0.8 mL · min⁻¹, 柱温为室温。结果 线性范围为 0.20~2.00 μg ($r=0.9999$, $n=6$); 平均回收率为 96.8%, RSD 为 1.40% ($n=6$)。结论 本法简便、准确、无干扰, 可用于脑心清颗粒的质量控制。

关键词: 山柰素; 脑心清颗粒; HPLC

中图分类号: R284; R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777 (2011) 05-0486-02

Determination of Kaempferol in Naoxinqing Granules by HPLC

Yang Wen, Sha Dongxu¹ and Duan Lishuang (Huludao Institute for Drug Control, Huludao Liaoning Province 125000; ¹Liaoning Institute for Drug Control)

ABSTRACT: **Objective** To establish the quantitative method of kaempferol in Naoxinqing Granules by HPLC. **Methods** The Diamonsil C18 column was used, methanol-water-phosphoric acid (55: 45: 0.2) as the mobile phase, with the detection wavelength at 365nm. The flow rate was 0.8 mL · min⁻¹ and column temperature was at room temperature. **Results** The linear range was within 0.20~2.00 μg ($r=0.9999$, $n=6$). The average recovery was 96.8%, RSD=1.40% ($n=6$). **Conclusion** This method is convenient, accurate and specified, which can be used to control the quality of Naoxinqing Granules.

KEY WORDS: kaempferol; Naoxinqing Granules; HPLC

脑心清颗粒是由柿叶经过水煎煮醇沉等生产工艺制成的颗粒剂^[1]。柿叶中主要有效成分为黄酮苷类和黄酮苷元, 水解后的黄酮苷元中主要有山柰素等成分^[2,3]。本研究参照《中国药典》^[4]及相关文献^[5-6]对制剂中的山柰素进行研究, 建立了本品中山柰素含量的测定方法。方法学验证结果表明, 本文所建立的方法能够有效地控制产品质量。

1 仪器与试剂

岛津 2010 高效液相色谱仪, 岛津 2010 紫外检测器, 全自动进样器, 岛津 LG-1Solution 工作站。山柰素对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号: 110861-1200304)。脑心清颗粒 (辽宁康辰药业有限公司, 批号: 20060201、20060202、20060203)。甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯; 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C18 (4.6mm × 250mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水-磷酸 (55: 45: 0.2); 检测波长: 365nm; 柱温: 室温; 流速: 0.8 mL · min⁻¹; 进样量: 10 μL。理论板数按山柰素峰计算应不低于 1500, 分离度为 10.5。

2.2 供试品溶液的制备

取本品细粉约 0.8g, 精密称定, 置 100mL 圆底烧瓶中, 加甲醇 32mL 及 2.5mol · L⁻¹ 硫酸溶液 8mL, 加热回流 1h, 放冷, 定量转移至 100mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取滤液, 即得。

2.3 对照品溶液的制备

精密称取山柰素对照品适量, 加甲醇溶解制成 0.20mg · mL⁻¹ 的溶液。

2.4 线性关系考察

精密吸取对照品溶液 1.0、2.0、3.0、5.0、

8.0、10.0 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 分别精密吸取 10 μ L, 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件测定峰面积, 以进样量为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 进行线性回归, 回归方程:

$$Y = 5.096312 \times 10^6 X - 6.6809 \times 10^4 \quad r = 0.9999$$

结果表明, 山柰素对照品在 0.20~2.00 μ g 范围内线性关系良好。

2.5 阴性对照试验

按处方量取辅料, 制备缺柿叶的阴性对照样品, 再按“2.2”项操作制备阴性对照溶液, 测定并比较供试品溶液、山柰素对照品溶液、阴性对照溶液的色谱图, 结果表明: 阴性对照溶液在与山柰素对照品相同保留时间处未显色谱峰, 故认为无干扰, 见图 1。

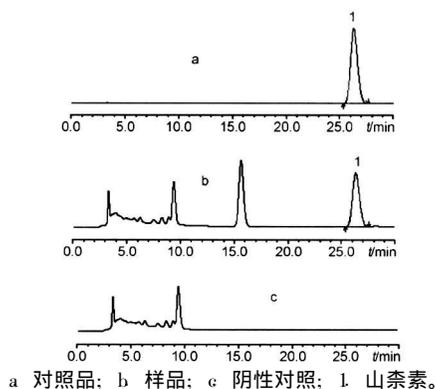


图 1 脑心清颗粒 HPLC 色谱图

2.6 精密度试验

精密吸取供试品溶液 (批号: 20060201) 10 μ L, 重复进样 6 次, 记录供试品溶液中山柰素的峰面积, 结果峰面积平均值为 3738360.2, RSD 为 0.09%。

2.7 稳定性试验

精密吸取供试品溶液 (批号: 20060201) 10 μ L, 于配制后 0、2、4、8、12、24 h 进样, 记录峰面积, 与 0 h 峰面积比较, 结果 RSD 为 0.30% ($n=6$)。表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.8 重复性试验

取同批样品 (批号: 20060201) 6 份, 按“2.2”项操作, 并按上述色谱条件进样测定, 结果山柰素平均含量为 9.362 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 为 1.09% ($n=6$)。

2.9 加样回收率试验

采用加样回收法, 称取已知含量的同批样品 (批号: 20060201, 山柰素含量为 9.362 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) 约 0.4 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 共 6 份, 分别精密加入山柰素对照品溶液 (0.2472 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 各 15 mL, 再分别加入甲醇 17 mL 及 2.5

$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫酸溶液 8 mL, 按“2.2”项方法制备测试溶液, 测定山柰素含量, 平均回收率为 96.8%, RSD 为 1.40% ($n=6$)。结果见表 1。

2.10 样品含量测定

分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L, 注入液相色谱仪, 以外标法按峰面积计算山柰素含量, 结果见表 2。

表 1 回收率测定结果 ($n=6$)

样品中山柰素含量 (mg)	加入量 (mg)	实测量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
3.754	3.708	7.354	97.09	96.8	1.40
3.747	3.708	7.352	97.22		
3.782	3.708	7.339	95.93		
3.748	3.708	7.277	95.17		
3.779	3.708	7.342	96.09		
3.768	3.708	7.440	99.03		

表 2 样品测定结果 ($n=4$)

批号	含量 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	RSD (%)
20060201	9.36	1.90
20060202	9.02	1.62
20060203	9.06	1.29

3 讨论

试验中曾选择甲醇-水-冰醋酸 (50:50:2) 和甲醇-水-磷酸 (50:50:0.2) 作为流动相, 经过比较发现, 前者的峰形不好, 山柰素的色谱峰与其他杂质峰的分离也不能达到要求; 后者经过调整比例为甲醇-水-磷酸 (55:45:0.2) 时, 山柰素的色谱峰保留时间适中, 与其他色谱峰能达到基线分离。因此, 选定该系统为流动相。试验中考察了样品的水解时间, 经过比较发现, 加热回流 30 min 的结果明显低于加热回流 1 h 和 1.5 h, 而加热回流 1 h 和 1.5 h 的结果比较接近, 因此水解时间选择 1 h。

参考文献:

- [1] 卫生部药品标准中药成方制剂 [S]. 第二十册, 1998: 294-294.
- [2] 贝伟剑, 罗杰, 吴爱奎, 等. HPLC 法测定柿叶浸膏中槲皮素和山柰酚 [J]. 中草药, 2005, (36) 7: 1014-1015.
- [3] 刘军, 郎爱东, 李翠翠. 不同产地和采收期柿叶的槲皮素和山柰酚含量比较 [J]. 中药材, 2007, (30) 2: 139-144.
- [4] 中国药典 [S]. 一部, 2005: 597-1598.
- [5] 黄雪梅, 蒙大平, 荣延平. 广西苦丁茶嫩叶和老叶中槲皮素和山柰素含量 [J]. 中国现代应用药学杂志, 2005, (22) 5: 383-385.
- [6] 陈薇, 罗昱澜, 杨寒艳. HPLC 法测定白花蛇舌草中槲皮素和山柰素的含量 [J]. 华夏医药, 2008, (21) 5: 899-900.