

## HPLC法测定山楂麦曲颗粒中金丝桃苷的含量

黄红雯,唐丽丽,谭小勇,江兰英(广东省韶关市药品检验所,广东 韶关 512028)

**摘要** 目的:建立测定山楂麦曲颗粒中金丝桃苷的方法。方法:采用 HPLC法,色谱柱:Agilent ZORBAX SB-C<sub>18</sub>柱(4.6 mm ×250 mm, 5 μm),流动相:甲醇-四氢呋喃-0.5%磷酸溶液(0.9:17.6:81.5),流速:1.0 mL/min,检测波长:360 nm,柱温:室温;进样量:20 μL。结果:金丝桃苷在 0.018 624~0.465 6 μg范围内呈良好的线性关系( $r=0.999 9$ );平均回收率为 96.097%,RSD为 0.82% ( $n=5$ )。10批山楂麦曲颗粒中金丝桃苷的含量测定结果在每袋含 49~65 μg。结论:该方法操作简单、重现性好、可用于山楂麦曲颗粒的质量控制。

**关键词** 山楂麦曲颗粒;金丝桃苷;高效液相色谱法

中图分类号:R917 文献标识码:A 文章编号:1006-0111(2009)04-0286-03

## Content determination of hyperoside for Shanzha Maiqu granule by HPLC

HUANG Hong-wen, TANG Li-li, TAN Xiao-yong, JIANG Lan-ying(Shaoguan Institute for Drug Control, Shaoguan 512028, China)

**ABSTRACT Objective:** To establish a method for determination of hyperoside in Shanzha Maiqu granule. **Methods:** HPLC was adopted with Agilent ZORBAX SB-C<sub>18</sub> column(4.6 mm ×250 mm, 5 μm), methanol-tetrahydrofuran-0.5% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>(0.9:17.6:81.5) as mobile phase at flow rate of 1.0 mL/min and 360 nm as detecting wavelength. Column temperature was room temperature and sample size was 20 μL. **Results:** The linear range of hyperoside was 0.018 624~0.465 6 μg( $r=0.999 9$ ). The average recovery rate of hyperoside was 96.09% and RSD was 0.82% ( $n=5$ ). The contents of hyperoside in ten batches of Shanzha Maiqu granule were determined between 49~65 μg. **Conclusion:** This method is simple, accurate and reproducible, suitable for quality control of the drug.

**KEY WORDS** Shanzha Maiqu granule; hyperoside; HPLC

山楂麦曲颗粒是由山楂、麦芽和黔曲等三味中药组成,1997年收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第十四册<sup>[1]</sup>,主要用于食欲不振、消化不良和脘腹胀满等症。由于该制剂的质量控制的检验项目仅有性状、鉴别和检查,因而不能很好地控制产品的质量。鉴于本方中的麦芽和黔曲尚未见合适的成分作为质量控制的指标,我们参考了其他山楂制剂的质量控制研究<sup>[2~4]</sup>,选用本制剂中的君药山楂的主要有效成分金丝桃苷作为定量的指标,采用高效液相色谱法测定山楂麦曲颗粒中金丝桃苷的含量,建立该成方制剂的含量测定质控指标,以更好地控制产品的质量。

### 1 仪器及试剂

**1.1 仪器** 高效液相色谱仪(岛津 LC-2010CHT, LC solution工作站);紫外分光光度计(岛津 UV-1240);超声清洗仪(东康科技 DSII0260);分析天平(METERLER AG-135)。

**1.2 试剂** 金丝桃苷对照品(中国药品生物制品

检定所,批号:110721-200512);甲醇为色谱纯(Fisher Chemicals);四氢呋喃为色谱纯(天津科密欧);无水乙醇为分析纯(广州化学试剂厂);甲醇为分析纯(广州市东红化工厂);聚酰胺(上海新量华试剂有限公司);水为纯化水。山楂麦曲颗粒(规格:15 g/袋,批号:060701、060702、060703、070601、070602、070603、080104、080105、080511、080512,广州莱泰制药有限公司)。

### 2 方法与结果

**2.1 对照品溶液** 精密称取金丝桃苷对照品 11.64 mg,置 50 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为贮备液。精密吸取贮备液 1.0 mL,置 100 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

**2.2 供试品溶液** 取供试品 10 包,研细,取约 10 g,精密称定,置 100 mL 锥形瓶中,加甲醇 50 mL,超声处理(功率 300 W,频率 40 kHz) 20 min,滤过,用少量甲醇洗涤容器及滤器,合并滤液及洗液,置水浴上蒸干,残渣用适量水溶解,加在聚酰胺柱上(2.0 g, 60~100 目,干法装柱),用水洗脱至洗脱液近无色,弃去水洗脱液,用 70%乙醇 60 mL 洗脱,收集洗

脱液,置水浴上蒸干,用甲醇溶解残渣,转移至 10 mL量瓶中并稀释至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45  $\mu\text{m}$ )滤过,弃去初滤液,取续滤液,即得。

**2.3 阴性对照溶液** 取麦芽 40 g和黔曲 40 g,加水煎煮 2次,每次 2 h,滤过,合并滤液,浓缩至相对密度 1.28~1.30(80 $^{\circ}\text{C}$ ),加入适量辅料,混匀,制得的颗粒作为阴性对照样品。精密称取 10.0522 g,置 100 mL具塞三角瓶中,以下操作与供试品溶液相同。

**2.4 检测波长的选择** 取金丝桃苷的对照品溶液在 280~450 nm处进行扫描,其紫外图谱(见图 1),从图谱看出,金丝桃苷在 360 nm有最大吸收,所以本实验检测波长采用 360 nm。

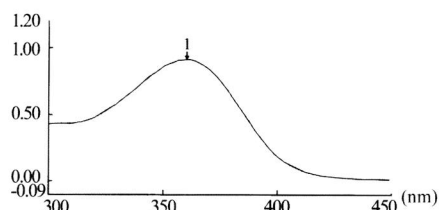


图 1 金丝桃苷对照品的紫外扫描图谱  
1 金丝桃苷

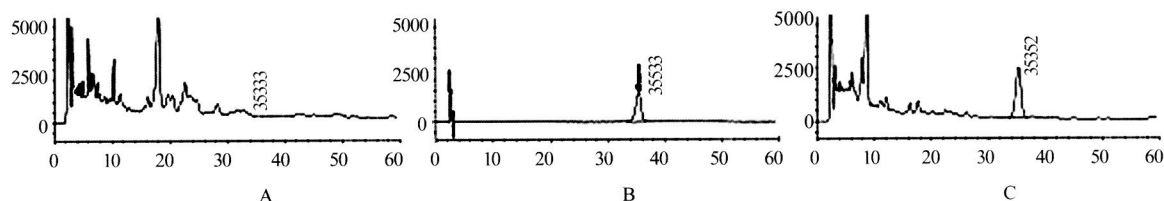


图 2 阴性对照液(A)、对照品液(B)和样品溶液(C)的 HPLC图  
1 金丝桃苷

**2.8 精密度试验** 取同一份供试品溶液,按上述色谱条件各连续进样 10次,  $RSD$  分别为 0.32%和 0.54%。

**2.9 稳定性试验** 取供试品溶液,按上述色谱条件进样,放置 0、2、4、6、8 h后再进样,所得的平均峰面积为 110 099,峰面积基本不变,  $RSD = 0.58\%$ ,说明供试品溶液在此时间内基本稳定。

**2.10 重复性试验** 取同一批号样品 6份,按供试品溶液项下操作,并按上述色谱条件测定,结果平均含

**2.5 色谱条件** 色谱柱: Agilent ZORBAX SB- $C_{18}$ 柱(4.6  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ),流动相: 甲醇-四氢呋喃-0.5%磷酸溶液(0.9: 17.6: 81.5),流速: 1.0 mL/min,检测波长: 360 nm,柱温: 室温;进样量: 20  $\mu\text{L}$ ;理论板数按金丝桃苷峰计算应不低于 2 500。

**2.6 系统适应性试验** 取阴性对照溶液、对照品溶液和样品溶液按上述色谱条件进样,色谱图如图 2。主峰的理论塔板数  $n = 5700$ ,与其它杂质峰的分度  $R = 6.8$ 。

**2.7 线性关系的考察** 精密吸取对照品贮备液 1.0 mL,分别依次置 250、200、100、50、25、10 mL量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,编号为 1、2、3、4、5、6溶液。精密吸取 1、2、3、4、5、6号溶液各 20  $\mu\text{L}$ ,注入液相色谱仪,按正文色谱条件测定。以对照品的量为横坐标,对照品峰的峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,计算回归方程得:  $Y = 2.30801 \times 10^6 X + 3.27815454$  ( $r = 0.9999$ ),表明金丝桃苷浓度在 0.01862~0.4656  $\mu\text{g}$ 范围内,有良好的线性关系。

量为 55.16  $\mu\text{g}$ /袋,  $RSD = 0.36\%$ ,表明重现性良好。

**2.11 加样回收率试验** 取已知含量(3.6777 mg/g)的同一批山楂麦曲颗粒细粉约 5 g,精密称定,称 6份,分别置 100 mL锥形瓶中,分别精密加入金丝桃苷对照品溶液(精密称取金丝桃苷对照品 10.95 mg,按“2.1对照品溶液项下操作,制备每 1 mL含金丝桃苷 0.0219 mg的甲醇溶液)1 mL,按供试品溶液项下操作,并按上述色谱条件测定,平均回收率为 96.09%,  $RSD$  为 0.82%,结果见表 1。

表 1 加样回收率测定结果 ( $n = 6$ )

编号	称样量(g)	供试品含量( $\mu\text{g}$ )	加入量( $\mu\text{g}$ )	测定量( $\mu\text{g}$ )	回收率(%)	平均回收率(%)	$RSD$ (%)
1	5.0390	18.5319	21.9	39.3800	95.20	96.09	0.82
2	5.0355	18.5191	21.9	39.3590	95.16		
3	5.0357	18.5198	21.9	39.7834	97.09		
4	5.0332	18.5106	21.9	39.6230	96.40		
5	5.0312	18.5032	21.9	39.6665	96.64		
6	5.0349	18.5169	21.9	39.5506	96.04		

2.12 样品测定 取样品溶液(10个批号)和对照品溶液,按上述色谱条件进样,用外标法测定其金丝桃苷的含量,结果见表 2。

表 2 山楂麦曲颗粒中金丝桃苷的含量 ( $n=5$ )

批号	含量 ( $\mu\text{g}/\text{袋}$ )	RSD (%)
060701	55.165 5	0.86
060702	62.164 5	0.75
060703	64.876 5	0.84
070601	49.142 3	0.52
070602	52.671 3	0.65
070603	50.234 6	0.58
080104	56.174 2	0.68
080105	51.768 7	0.71
080511	48.728 7	0.81
080512	60.312 4	0.65

### 3 讨论

3.1 在对供试品溶液制备的研究中,曾对甲醇的用量、超声溶出的时间、聚酰胺的用量和粒度以及 70%乙醇的用量均做了比较,结果发现用甲醇 50 mL,超声处理 20 min,聚酰胺(60~100目)上柱量 2.0 g,并用 70%乙醇 60 mL 洗脱,是既能达到去除

杂质使有效成分充分溶出的目的,又能省时省试剂减少环境污染。

3.2 在系统适应性的研究中,流动相用乙腈-0.1%磷酸溶液(16:84)和乙腈-甲醇-四氢呋喃-0.5%冰醋酸溶液(1:1:19.4:78.6)均达不到理想的分离效果,而用本文所定的流动相,分离度和峰形都较为理想。

3.3 由于该产品所用药材山楂产地广,金丝桃苷的含量差别较大,同时检测允许有一定的误差范围,根据表 2 的结果,建议以本结果的 60%为下限建立本产品的含量限度,即含量限度定为本品每袋(15 g)含金丝桃苷( $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{12}$ ),不得少于 36.5  $\mu\text{g}$ 。

### 参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 山楂麦曲颗粒 [S]. 中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂第十四册. 1997: 10.
- [2] 中国药典 2005 年版 [S]. 一部. 2005: 23, 159.
- [3] 邢秀芳,于宏芬. HPLC 法测定大山楂丸中金丝桃苷的含量 [J]. 中草药, 2003, 34(8): 712.
- [4] 李琛,谢沅书,张彬. HPLC 法测定山楂调中丸中金丝桃苷的含量 [J]. 山西中医, 2007, 23(5): 66.

收稿日期: 2008-12-03

(上接第 285 页)

2.34)%、(100.3  $\pm$  3.1)%, 箭藿苷 A (102.2  $\pm$  3.11)%, (97.75  $\pm$  1.25)%, (100.8  $\pm$  1.29)%, 宝藿苷 (106.2  $\pm$  1.41)%, (101.3  $\pm$  1.15)%, (100.6  $\pm$  1.02)%。

2.5 样品测定 取不同批次淫羊藿药材依法提取,制备供试品溶液。按“2.1 项下色谱条件依次进样 20 mL,记录峰面积,计算对应成分的百分含量。含量测定结果见表 2。

表 2 淫羊藿样品各组分含量测定结果 (%) ( $n=3$ )

药材	朝藿定 A	朝藿定 C	淫羊藿苷	箭藿苷 A	宝藿苷 I
1	0.201 5	0.325 6	1.204	0.004 017	0.011 42
2	0.119 2	0.057 6	0.741 6	0.007 867	0.022 79
3	0.135 2	0.592 5	1.230	0.009 114	0.014 00
4	0.159 0	0.629 4	1.299	0.011 58	0.026 28
5	0.107 0	0.923 7	0.637 2	0.008 334	0.019 12

### 3 讨论

3.1 提取方法的选择 煎煮提取方法参考生药学中药材提取方法确定。乙醇提取方法经参考文献及《中国药典》2005 版一部淫羊藿项下要求确定<sup>[3]</sup>。考察了 20%乙醇的提取结果,主要黄酮类物质峰面积明显减少;同时更长超声时间(40 min)下的各峰面积无明显差异,显示提取已基本完全;重复性实验

亦表明采用该提取方法稳定可靠。

3.2 检测波长的选择 经采集色谱图 16 个主要组分峰的紫外吸收光谱,表明所检测各组分在 200 nm 附近、270 nm 处存在吸收峰。考虑所用流动相在 200 nm 波长附近有较大的末端吸收干扰,故最终选择 270 nm 为采集色谱图时的吸收波长。

### 参考文献:

- [1] 谢娟平,孙文基. 淫羊藿属植物化学成分及药理研究进展 [J]. 海峡药学, 2006, 18(5): 17.
- [2] 葛淑兰,田景振. 淫羊藿及其有效成分的药理研究进展 [J]. 中国药师, 2005, 8(6): 462.
- [3] 中国药典 2005 版 [S]. 2005 (D): 229.
- [4] 李庆军,李海燕. HPLC 法测定引阳索颗粒的淫羊藿苷含量 [J]. 齐鲁药事, 2006, 25(11): 662.
- [5] 贾敏鸽,孙文基,朱朝德. RP-HPLC 测定淫羊藿不同品种和部位中柔藿苷和淫羊藿苷 [J]. 药物分析杂志, 2005, 25(1): 64.
- [6] 谢娟平,胥道宝,孙文基. HPLC 法测定巫山淫羊藿中 4 种成分的含量 [J]. 药物分析杂志, 2007, 27(3): 437.
- [7] 李步海,武玉学,林爱华. 淫羊藿中有效成分淫羊藿甙分离纯化的研究 [J]. 中南民族学院学报(自然科学版), 2001, 20(4): 1.
- [8] 裴利宽,郭宝林,黄文华. 淫羊藿属主要资源种类的 HPLC 指纹图谱特征和种类鉴定 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(14): 1662.
- [9] 曾宝,黄晓其,苏子仁. HPLC 法同时测定益肾灵颗粒中淫羊藿苷、补骨脂素及异补骨脂素的含量 [J]. 中南民族学院学报(自然科学版), 2008, 19(6): 442.

收稿日期: 2008-11-20