

HPLC 法测定枫蓼肠胃康片中山奈酚-3-O-芸香糖苷的含量*

何远景, 钟冬雪, 陈国彪[△]

(海南省药品检验所, 海南 海口 570216)

摘要: 目的 采用高效液相色谱法测定枫蓼肠胃康片中山奈酚-3-O-芸香糖苷的含量。方法 采用岛津 LC-20AD 高效液相色谱仪, 以乙腈-0.4% 甲酸 (16:84) 为流动相, 流速 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 检测波长 346nm, 柱温 35°C 。结果 山奈酚-3-O-芸香糖苷线性范围为 $6.92\sim 69.2\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($r=0.9997$), 平均回收率 ($n=6$) 为 98.69%。结论 本法可测定枫蓼肠胃康片中山奈酚-3-O-芸香糖苷的含量, 可用于该产品的质量控制。

关键词: 山奈酚-3-O-芸香糖苷; 枫蓼肠胃康片; 牛耳枫; 高效液相色谱法; 含量

中图分类号: R286.0 文献标志码: A 文章编号: 1000-2723(2016)02-0034-03

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2016.02.009

枫蓼肠胃康片原标准收载于部颁标准中药成分制剂 17 册, 由牛耳枫、辣蓼 2 味药组成, 用于理气健胃, 除湿化滞^[1], 原标准简单, 仅有 2 个理化反应, 没有含量测定。辣蓼和牛耳枫为特色南药品种, 收载于海南省中药材标准第一册^[2]。近年来枫蓼肠胃康系列品种质量标准研究中多以芦丁为其含量测定指标^[3-6], 但辣蓼和牛耳枫均含有芦丁^[7-15], 不具专属性, 因此, 选择牛耳枫药材中特有成分山奈酚-3-O-芸香糖苷^[16]进行含量测定, 为枫蓼肠胃康片的标准建立提供依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

岛津 LC-20AD 高效液相色谱仪; BSA224S 型电子分析天平; Mettler XS205DU 型电子分析天平。

1.2 试剂

山奈酚-3-O-芸香糖苷对照品 (ANPEL, 批号: W0040010); 化学试剂为色谱纯或分析纯; 枫蓼肠胃康片 (海口市制药厂, 批号: 150701、150804、150805)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱为 Agilent TC-C₁₈ ($5\mu\text{m}$, $4.6\text{mm}\times 250\text{mm}$); 乙腈-0.4% 甲酸 (16:84) 为流动相; 检测波

长为 346nm; 柱温 35°C ; 流速 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 进样量 $10\mu\text{L}$; 理论塔板数按山奈酚-3-O-芸香糖苷峰计不低于 3000。

2.2 线性关系

精密称取山奈酚-3-O-芸香糖苷对照品 8.65mg, 置于 10mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品储备液。精密称取对照品储备液, 用甲醇稀释成每 1mL 分别含 6.92、13.84、20.76、34.6、69.2 μg 的标准溶液。分别精密吸取 $10\mu\text{L}$, 注入液相色谱仪, 在 2.1 色谱条件下测定, 以标准对照品溶液浓度为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 得到其回归方程: $y=15928x-7668$, $r=0.9997$ 。结果表明: 山奈酚-3-O-芸香糖苷浓度在 $6.92\sim 69.2\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 之间与其峰面积呈良好的线性关系。

2.3 供试品溶液的制备

取本品 10 片, 除去薄膜衣, 精密称定, 研细, 精密称取 0.5g, 精密加入甲醇 25mL, 称定重量, 水浴回流 30min, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.4 阴性对照溶液的制备

按处方制备不含牛耳枫的阴性样品, 按供试品溶液的制备方法, 制成阴性对照溶液。

* 基金项目: 国家十一五科技支撑计划项目 (2007BA127B00); 海南省自然科学基金项目 (30734)

收稿日期: 2016-01-23

作者简介: 何远景 (1980-), 男, 海南海口人, 主管中药师, 研究方向: 药品检验。

[△]通信作者: 陈国彪, E-mail: chenguobiaocom@sina.com

2.5 精密度试验

精密吸取对照品溶液($34.6\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) $10\mu\text{L}$ 注入色谱仪中,连续进样6次,测定其峰面积积分值,结果RSD为0.19%($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取2.3项下供试品溶液,分别于1、2、4、6、8、10、12h进样,测定其峰面积积分值,考察溶液的稳定性,结果RSD=0.65%($n=7$)。结果表明供试品溶液12h内测定基本稳定。

2.7 重复性试验

取样品(海口市制药厂,批号:150701)平行制备6份供试品溶液,按上述条件和方法进行测定,结果山奈酚-3-O-芸香糖苷平均含量为 $1.16\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,RSD=0.75%($n=6$)表明该方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

取已知含量(含量为 $1.16\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)的样品约0.25g,共6份,分别精密加入山奈酚-3-O-芸香糖苷对照品溶液($0.34\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)各5mL,再精密加入20mL甲醇,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,测定含量并计算山奈酚-3-O-芸香糖苷的回收率,结果见表1,实验结果表明该方法回收率良好。

表1 加样回收率试验结果

取样量 (g)	样品中 含量 (mg)	对照品 加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
0.2553	0.2973	0.34	0.636	99.7	98.7	0.973
0.2628	0.3060	0.34	0.643	99.0		
0.2657	0.3094	0.34	0.647	99.3		
0.2618	0.3048	0.34	0.642	99.1		
0.2565	0.2986	0.34	0.630	97.5		
0.2583	0.3007	0.34	0.632	97.5		

2.9 专属性试验

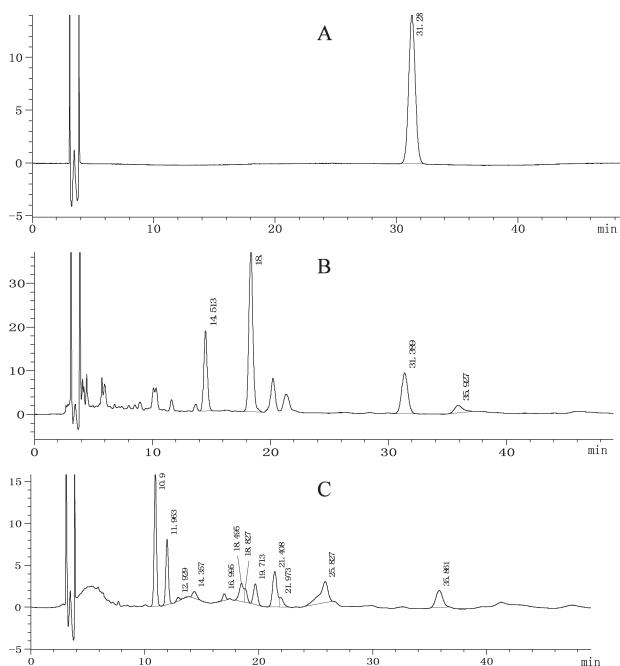
分别取对照品溶液,供试品溶液,阴性对照品溶液,按“2.1”色谱条件下进行测试,在阴性对照品色谱中,与对照品色谱保留时间一致的位置上无吸收峰,说明阴性对照无干扰,见图1。

2.10 样品含量测定

取样品(批号:150701、150804、150805),每批样品平行取样3份,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,在上述色谱条件下测定,结果见表2。

3 讨论

本文选取牛耳枫中山奈酚-3-O-芸香糖苷为指



A.对照品溶液;B.供试品溶液;C.阴性对照溶液

图1 专属性试验色谱图

表2 含量测定结果($n=3$)

批号	含量($\text{mg}\cdot\text{片}^{-1}$)			平均值 ($\text{mg}\cdot\text{片}^{-1}$)
	1	2	3	
150701	0.259	0.258	0.259	0.259
150804	0.252	0.252	0.251	0.252
150805	0.253	0.252	0.253	0.253

标进行含量测定,专属性强。

提取方法的选择:由于山奈酚-3-O-芸香糖苷在热溶剂中溶解较好,因此选用回流法作为提取方法,经过试验,回流30min后能满足实验要求。

流动相的选择比较了甲醇-0.4%甲酸(16:84)和乙腈-0.4%甲酸(16:84),结果以乙腈-0.4%甲酸(16:84)的流动相系统所得图谱分离效果好,且保留时间适中。

检测波长的选择:取山奈酚-3-O-芸香糖苷对照品的甲醇溶液,在高效液相色谱仪上用二极管阵列检测器采集190~400nm紫外吸收光谱,结果分别在265nm和346nm波长处有最大吸收,而346nm时色谱峰比较好、基线平稳,因此选用346nm作为最大吸收波长。

本文测定方法简便,结果准确,重现性好,可有效控制枫蓼肠胃康片的质量。根据上述样品的含

量测定结果并考虑生产的可行性,规定本品每片含山奈酚-3-O-芸香糖苷($C_{27}H_{30}O_{15}$)不得少于0.20mg。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准—中药成方制剂(第十七册)[M]. 北京:人民卫生出版社,1998:147.
- [2] 海南省食品药品监督管理局. 海南省中药材标准(第一册)[M]. 海口:南海出版公司,2012:137-143,172-173.
- [3] 罗杰,王德勤,陈松光,等. 枫蓼肠胃康片的质量标准研究[J]. 中国药学杂志,2003,38(11):886.
- [4] 郭润勤,杨金燕. HPLC 法测定枫蓼肠胃康颗粒中芦丁的含量[J]. 海峡药学,2013,25(7):81-82.
- [5] 郭润勤. HPLC 法测定枫蓼肠胃康片中芦丁的含量[J]. 齐鲁药事,2009,28(5):269-270.
- [6] 王玉鹏,赵丽华,黄顺旺. 枫蓼肠胃康分散片的质量研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(20):109-111.
- [7] 何远景,陈国彪,张金花. 高效液相色谱法测定牛耳枫中芦丁的含量[J]. 中国热带医学,2007,7(11):2105-2106.
- [8] 罗杰,陆霞. HPLC 法测定水辣蓼中芦丁的含量[J]. 中草药,2004,35(3):285-286.

- [9] 赵丹,安妮,张小坡,等. 枫蓼肠胃康的研究进展[J]. 现代药物与临床,2014,29(12):1446-1450.
- [10] 张小坡,张俊清,康胜利,等. 黎药牛耳枫化学成分研究[J]. 中国现代中药,2011,13(10):26-29.
- [11] 黄红泓,甄汉深. 中草药辣蓼近年来的研究进展[J]. 中国民族民间医药,2013(1):38-40.
- [12] 何立美,陈玉婷,刘洪梅,等. 高效液相色谱法同时测定水辣蓼提取物中6种黄酮成分的含量[J]. 广东农业科学,2014,(13):95-98.
- [13] 何立美,陈玉婷,刘洪梅,等. 紫外可见分光光度法测定枫蓼水煎液中总黄酮含量[J]. 中国畜牧兽医,2014,41(6):140-144.
- [14] 杨宪,王伯初,刘玮琦,等. 枫蓼肠胃康口服液HPLC指纹图谱研究[J]. 天然产物研究与开发,2011,23(6):1167-1171.
- [15] 刘明生,刘畅,张小坡,等. 中药复方-肠胃康化学成分研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2010,12(4):614-616.
- [16] 刘明生,张俊清,郭小明,等. 复方肠胃康中黄田坝成分的研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2010,12(5):811-813.

(编辑:徐建平)

Determination Kaempferol-3-O-rutinoside from Fengliao Changweikang Tablets by HPLC

HE Yuanjing, ZHONG Dongxue, CHEN Guobiao

(Hainan Provincial Institute for Drug Control, Haikou 570216, China)

ABSTRACT: **Objective** To establish an HPLC method for determining the content of Kaempferol-3-O-rutinoside in Fengliao Changweikang Tablets. **Methods** Using US High Performance Liquid Chromatograph Instrument and acetonitrile-0.4% formic acid water solution(16:84) as the mobile phase, the flow rate was 1.0mL/min and test wavelength was 346nm and the column temperature was 35°C. **Results** Kaempferol-3-O-rutinoside had a good linearity within the range of 6.92~69.2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($r=0.9997$), the average recovery was ($n=6$) 98.69%. **Conclusion** This methods can be use as a measure to determine the exact content of Kaempferol-3-O-rutinoside in Fengliao Changweikang tablets and as a control over product quality as well.

KEY WORDS: Kaempferol-3-O-rutinoside; Fengliao Changweikang tablet; Daphniphyllum calycinum; HPLC; content

《云南中医学院学报》欢迎网上投稿

网址:<http://www.xb.ynutcm.edu.cn>