

枳术丸中辛弗林的HPLC测定

蔡俊安

(河南百年康鑫药业有限公司, 河南 郸城 477150)

摘要: 目的 建立枳术丸中辛弗林含量测定的方法。方法 采用高效液相色谱法, Diamonsil ODS1 C₁₈ 色谱柱, 以甲醇-磷酸二氢钾水溶液(取磷酸二氢钾 0.6 g、十二烷基磺酸钠 1.0 g、冰醋酸 1 mL, 加水溶解并稀释至 1000 mL, 50 : 50) 为流动相, 流速为 1.0 mL/min, λ = 275 nm。结果 辛弗林在 0.065 6~0.656 μg 范围内呈良好线性, 回归方程为: $Y = 478\,526.3X + 827.146$, $r = 0.9998$, 平均加样回收率为 99%, RSD = 0.99% ($n = 6$)。结论 本方法简便、准确, 专属性强, 测定结果重复性好, 为枳术丸中辛弗林的定量分析提供了有效方法。

关键词: 枳术丸; 辛弗林; 高效液相色谱法; 含量测定

DOI: 10.3969/j.issn.1005-5304.2011.02.025

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 1005-5304(2011)02-0061-02

Determination of Synephrine in Zhizhu Wan by HPLC CAI Jun-an (*Henan Bainian Kangxin Pharmaceutical Co. Ltd, Dancheng 477150, China*)

Abstract: Objective To establish the method for determining the content of synephrine in Zhizhu Wan by HPLC. **Methods** Diamonsil ODS1 C₁₈ column was used with methanol-potassium dihydrogen phosphate (per 1000 mL contains 0.6 g potassium dihydrogen phosphate, 1.0 g SDS and 1 mL acetic acid, 50 : 50) as the mobile phase, detection wavelength as 275 nm and flow rate of 1.0 mL/min. **Results** The calibration curve was linear at the range of 0.065 6~0.656 μg for synephrine and linear equation was $Y = 478\,526.3X + 827.146$, $r = 0.9998$. The average recovery was 99% and the related standard deviation (RSD) was 0.99% ($n = 6$). **Conclusion** The method was simple, accurate and proper, and the reduplication of the result was good. It provides scientific quantitative analysis method of synephrine in Zhizhu Wan.

Key words: Zhizhu Wan; synephrine; HPLC; content determination

枳术丸收载于 2010 年版《中华人民共和国药典》(一部)中, 功能健脾消食、行气化湿, 用于脾胃虚弱, 食少不化, 脘腹痞满, 处方由枳实(炒)、麸炒白术组成^[1]。原标准中只有简单的显微鉴别项, 而对处方中的主药枳实没有含量测定, 不能全面控制药品的质量。为了更好地控制枳术丸的质量, 本试验采用高效液相色谱(HPLC)法对枳实的主要成分辛弗林进行了含量测定, 并进行了方法学研究。现报道如下。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪: SPD-10A 日本岛津; 紫外分光光度仪: 上海康化生化仪器制造厂; 超声波清洗器: SK3200H 上海科导超声仪器有限公司。

辛弗林对照品(批号 110727-200306, 供含量测定用), 中国药品生物制品检定所提供; 枳术丸(批号 20100201、20100202、20100203), 河南百年康鑫药业有限公司提供; 其他试剂均为

参考文献:

- [1] Rapp I, Apati P, Andrasek V, et al. LC-MS analysis of antioxidant plant phenoloids[J]. *Chromatographia*, 2004, 60: S93-S100.
- [2] Apati P, Szentmihalyi K, Balazs A, et al. HPLC analysis of the flavonoids in pharmaceutical preparations from Canadian goldenrod (*Solidago canadensis*) [J]. *Chromatographia*, 2002, 56 (Suppl): S65-S68.
- [3] 王开金, 陈列忠, 李宁, 等. 加拿大一枝黄花黄酮类成分及抗氧化与自由基清除活性的研究[J]. *中国药学杂志*, 2006, 41 (7): 493-497.
- [4] 郭水良, 方芳. 入侵植物加拿大一枝黄花对环境的生理适应性研究[J]. *植物生态学报*, 2003, 27 (1): 47-52.
- [5] 印丽萍, 谭永彬, 沈国辉, 等. 加拿大一枝黄花的研究进展[J]. *杂草科学*, 2010, (2): 8-11.
- [6] Apati P, Szentmihalyi K, Kristo SzT, et al. Herbal remedies of *Solidago*-correlation of phytochemical characteristics and antioxidative properties[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2003, 2(4/5): 1045-1053.
- [7] McCune LM, Johns T. Antioxidant activity in medicinal plants associated with the symptoms of diabetes mellitus used by the indigenous peoples of the North American boreal forest[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2002, 82 (2/3): 197-205.
- [8] Robak J, Gryglewski RJ. Flavonoids are scavengers of superoxide anions[J]. *Biochemical Pharmacology*, 1988, 37: 837-841.
- [9] Brul B, Coote P. Preservative agents in foods: mode of action and microbial resistance mechanisms[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 1999, 50: 1-17.

(收稿日期: 2010-02-09, 编辑: 华强)

分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

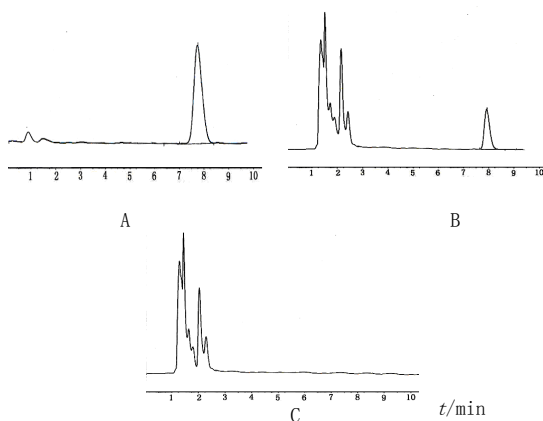
以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；以甲醇-磷酸二氢钾水溶液(取磷酸二氢钾 0.6 g、十二烷基磺酸钠 1.0 g、冰醋酸 1 mL,加水溶解并稀释至 1 000 mL, 50:50)为流动相；检测波长为 275 nm。理论板数按辛弗林峰计算应不低于 2 000^[1-2]。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 取辛弗林对照品适量,精密称定,加水制成每 1 mL 含 30 μg 的溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取装量差异项下的本品,研细,取约 3 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,称定重量,加热回流 1.5 h,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过。精密量取续滤液 10 mL,蒸干,残渣加水 10 mL 使溶解,摇匀,通过聚酰胺柱(60~90 目,2.5 g,内径 1.5 cm,干法装柱),用水 25 mL 洗脱。收集洗脱液,转移至 25 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 阴性样品的测试 取缺枳实的样品,按供试品制备方法制备阴性样品后测定,在辛弗林相应位置无峰出现,说明阴性样品的其他成分无干扰。见图 1。



注: A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性样品

图 1 枳实丸 HPLC 图谱

2.3 线性关系的考察

分别精密吸取同一对照品溶液(32.8 μg/mL)2、4、8、10、20 μL,注入液相色谱仪,测定峰面积。以辛弗林对照品进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,其回归方程为: $Y=478526.3X+827.146$, $r=0.9998$ 。结果表明,辛弗林对照品在 0.065 6~0.656 μg 范围内线性关系良好。

2.4 精密度试验

取同一对照品溶液,重复进样 6 次,每次进样 5 μL,测定辛弗林峰面积,结果 RSD=1.14%,表明本法精密度良好。

2.5 重复性试验

取同一批号(批号 20100201)供试品,按供试品溶液制备方法制备 6 份供试品溶液,测定每份样品中辛弗林的含量,结果 RSD=0.48%($n=6$),表明重复性良好。

2.6 稳定性试验

取同一批号(批号 20100201)的供试品,按供试品溶液

的制备方法制备供试品溶液,分别在 0、2、4、6、8 h 测定峰面积,结果 RSD=1.92%($n=5$)。表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.7 加样回收率试验

采用加样回收法。称取已知含量的同一批号样品(批号 20100201,含量为 0.51 mg/g)1.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,共 6 份。分别精密加入辛弗林对照品溶液(0.032 8 mg/mL)各 25 mL,蒸干,按供试品溶液制备方法制备,并照上述色谱条件测定,分别进样 10 μL,测定辛弗林峰面积并计算辛弗林含量,结果平均回收率为 99%,RSD=0.99%($n=6$)。见表 1。

表 1 加样回收率试验结果

样品取样量(g)	样品中辛弗林量(mg)	加入辛弗林量(mg)	测得总量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1.523 4	0.776 9	0.82	1.598 5	100.2		
1.542 6	0.786 7	0.82	1.596 0	98.7		
1.582 1	0.806 9	0.82	1.606 4	97.5	99	0.99
1.504 2	0.767 1	0.82	1.583 8	99.6		
1.517 4	0.773 9	0.82	1.580 0	98.3		
1.569 3	0.800 3	0.82	1.616 2	99.5		

2.8 样品测定

按照供试品溶液制备方法对 3 批中试产品进行测定,结果见表 2。

表 2 辛弗林含量测定结果

批号	辛弗林含量(mg/g)
20100201	0.51
20100202	0.62
20100203	0.56

3 讨论

根据 3 批样品测定结果,每 1 g 含枳实以辛弗林($C_8H_{13}NO_2$)计均不少于 0.5 mg,考虑到药材因产地、加工、运输、贮藏等因素的影响,药材中辛弗林也会有较大的差别,故暂规定:本品每 1 g 含枳实以辛弗林($C_8H_{13}NO_2$)计,不得少于 0.45 mg。

取辛弗林对照品溶液,在 200~400 nm 波长范围进行扫描,结果在 275 nm 波长处有最大吸收,故采用 275 nm 作为检测波长。

参考 2010 年版《中华人民共和国药典》(一部)记载的枳实原药材含量测定项下的供试品制备方法,分别考察了超声提取与加热回流提取方法,结果超声提取 3 h 以上才能基本提取完全;对加热回流提取时间分别考察了 1、1.5、2 h,结果加热回流提取 1.5 h 基本提取完全,故采用加热回流提取。

本方法具有操作简便、结果准确、灵敏度高等特点,可以作为本品质量的控制方法。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 876, 230-231.
- [2] 许妍, 付辉政. RP-HPLC 法测定枳实中辛弗林的含量[J]. 药品评价, 2005, 2(6): 436-437.

(收稿日期: 2010-05-07, 编辑: 陈静)