

HPLC 法测定青贯解毒颗粒中去甲氧基莨菪素、重楼皂苷VII、重楼皂苷II和重楼皂苷I

晏明英¹, 魏谭军^{1*}, 肖成¹, 熊永爱²

1. 达州市中西医结合医院, 四川 达州 635000

2. 成都中医药大学 药学院, 四川 成都 611137

摘要: **目的** 建立 HPLC 法同时测定青贯解毒颗粒中去甲氧基莨菪素、重楼皂苷VII、重楼皂苷II和重楼皂苷I。**方法** 采用 Agilent Zorbax SB C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相 A: 甲醇-乙腈 (2:1), 流动相 B: 水, 采用梯度洗脱; 0~32 min 时在 298 nm 波长下检测去甲氧基莨菪素, 32~75 min 在 203 nm 波长下检测重楼皂苷VII、重楼皂苷II和重楼皂苷I; 体积流量: 0.9 mL/min; 进样量: 20 μL。**结果** 去甲氧基莨菪素、重楼皂苷VII、重楼皂苷II和重楼皂苷I 分别在 4.14~82.80 μg/mL ($r=0.999\ 9$)、3.80~76.00 μg/mL ($r=0.999\ 5$)、4.94~98.80 μg/mL ($r=0.999\ 8$)、7.57~151.40 μg/mL ($r=0.999\ 7$) 与峰面积具有较好的线性关系。平均回收率分别为 99.26%、97.62%、98.27%、98.90%, RSD 值分别为 0.87%、1.39%、1.14%、1.15%。**结论** 建立的 HPLC 法同时测定青贯解毒颗粒中去甲氧基莨菪素、重楼皂苷VII、重楼皂苷II和重楼皂苷I, 方法操作准确、简便, 可作为青贯解毒颗粒的质量控制方法。

关键词: 青贯解毒颗粒; 去甲氧基莨菪素; 重楼皂苷VII; 重楼皂苷II; 重楼皂苷I; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2016)07-0953-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2016.07.006

Determination of demethoxymatteucinol, chonglousaponin VII, chonglousaponin II, and chonglousaponin I in Qingguan Jiedu Granules by HPLC

YAN Ming-ying¹, WEI Tan-jun¹, XIAO Cheng¹, XIONG Yong-ai²

1. Dazhou Hospital of Integrated traditional Chinese and Western Medicine, Dazhou 635000, China

2. School of Pharmacy, Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China

Abstract: Objective To develop an HPLC method for determination of demethoxymatteucinol, chonglousaponin VII, chonglousaponin II, and chonglousaponin I in Qingguan Jiedu Granules. **Methods** The determination was carried out on Agilent Zorbax SB C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase consisted of phase of A: methanol-acetonitrile (2:1) and phase B: water with gradient elution. The detection wavelengths were 298 nm in 0 — 32 min (determination of demethoxymatteucinol) and 203 nm in 32 — 75 min (determination of chonglousaponin VII, chonglousaponin II, and chonglousaponin I). The flow rate was 0.9 mL/min, and volume of injection was 20 μL. **Results** There were good linear relationships of demethoxymatteucinol, chonglousaponin VII, chonglousaponin II, and chonglousaponin I in the concentration ranges of 4.14 — 82.80 μg/mL ($r=0.999\ 9$), 3.80 — 76.00 μg/mL ($r=0.999\ 5$), 4.94 — 98.80 μg/mL ($r=0.999\ 8$), and 7.57 — 151.40 μg/mL ($r=0.999\ 7$) between peak areas, respectively. The average recoveries were 99.26%, 97.62%, 98.27%, and 98.90% with RSD 0.87%, 1.39%, 1.14%, and 1.15%, respectively. **Conclusion** The established method can be successfully used for simultaneous determination of demethoxymatteucinol, chonglousaponin VII, chonglousaponin II, and chonglousaponin I in Qingguan Jiedu Granules, and the method is accurate and simple which can be used in quantity control for Qingguan Jiedu Granules.

Key words: Qingguan Jiedu Granules; demethoxymatteucinol; chonglousaponin VII; chonglousaponin II; chonglousaponin I; HPLC

青贯解毒颗粒由贯众、重楼、青蒿、大青叶、有清热解毒之功效, 用于风热感冒, 症见发烧、汗出、头痛、咽痛、鼻塞、咳嗽等症状。该制剂的现

收稿日期: 2016-03-18

作者简介: 晏明英 (1977—), 女, 四川南充人, 主管中药师, 中药房主任, 从事医院中药学相关工作。Tel: 13983831451 E-mail: 1254783067@qq.com

*通信作者 魏谭军 (1984—), 男, 四川达州人, 硕士研究生, 中药师, 从事医院制剂的研究与开发。Tel: 18384801978 E-mail: 404477285@qq.com

标准仅规定了性状、理化鉴别及颗粒剂通则的检查项^[1-2]。本实验采用 HPLC 法同时测定青贯解毒颗粒中去甲氧基莪果蕨素、重楼皂苷 VII、重楼皂苷 II 和重楼皂苷 I，为青贯解毒颗粒质量标准的提高提供依据。

1 仪器与试药

1260 型高效液相色谱仪（美国安捷伦科技有限公司），AL104 型电子天平（梅特勒-托利多仪器上海有限公司），KQ-400KDE 型大功率数控超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）。

去甲氧基莪果蕨素对照品（批号 56297-79-1，质量分数 98.0%）购于上海瀚香生物科技有限公司；重楼皂苷 VII（批号 111593-201303，质量分数 92.5%）、重楼皂苷 II（批号 111591-201103，质量分数 93.4%）、重楼皂苷 I（批号 111590-201103，质量分数 92.1%）对照品均购于中国食品药品检定研究院。青贯解毒颗粒由达州市中西医结合医院提供，规格 12 g/袋，批号分别为 20151020、20151118、20151207。甲醇、乙腈为色谱纯，水为重蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备

取青贯解毒颗粒适量，研成细粉，精密称取 3.0 g，置具塞锥形瓶中，精密加入乙醇 50 mL，密塞，称定质量，超声（功率 250 W，频率 40 kHz）处理 40 min，放冷，用乙醇补足减失的质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2.2 混合对照品溶液的制备

分别精密称取去甲氧基莪果蕨素、重楼皂苷 VII、重楼皂苷 II 和重楼皂苷 I 对照品适量，用乙醇溶解，并稀释成质量浓度分别为 0.414、0.380、0.494、0.757 mg/mL 溶液，摇匀，即得各对照品储备溶液。分别依次量取 4 个对照品储备液 2.5、1.5、5.0、5.0 mL，置同一 50 mL 量瓶中，加乙醇稀释至刻度，摇匀，即得混合对照品溶液（含去甲氧基莪果蕨素 20.7 μg/mL、重楼皂苷 VII 11.4 μg/mL、重楼皂苷 II 49.4 μg/mL、重楼皂苷 I 75.7 μg/mL）。

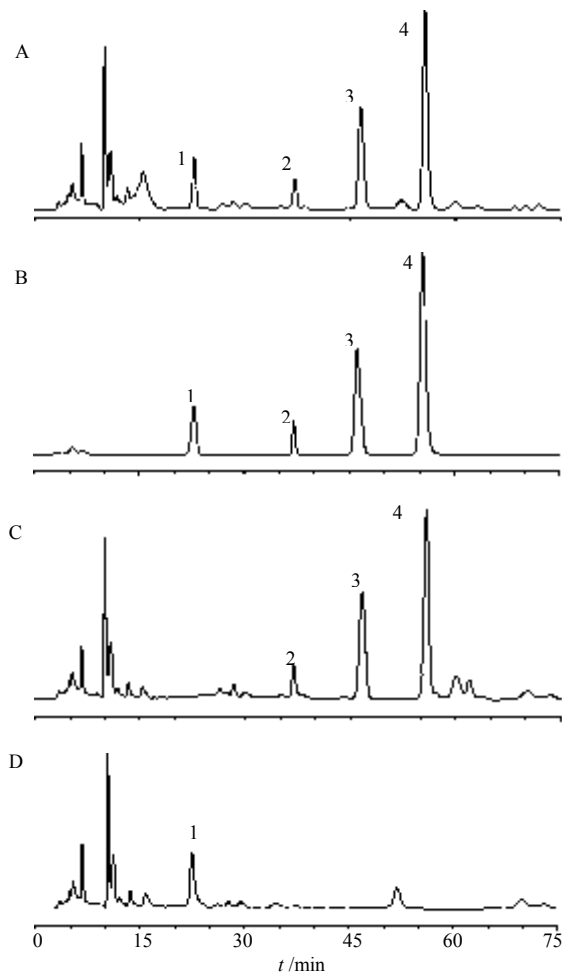
2.3 阴性样品溶液的制备

分别称取缺贯众和缺重楼外的其他 7 味药材各 1 份，按照青贯解毒颗粒质量标准项下处方和生产工艺过程分别配制缺贯众、重楼的阴性样品，并按照 2.1 项下方法分别制备阴性样品溶液。

2.4 色谱条件及系统适用性

采用 Agilent Zorbax SB C₁₈ 色谱柱（250

mm×4.6 mm，5 μm）；流动相 A：甲醇-乙腈（2：1），流动相 B：水，采用梯度洗脱^[3-7]（0~12 min，35.0% A；12~32 min，35.0%→46.0% A；32~65 min，46.0%→70.0% A；65~75 min，70.0%→35.0% A；0~32 min 时在 298 nm 波长^[8]下检测去甲氧基莪果蕨素，32~75 min 在 203 nm 波长^[9-11]下检测重楼皂苷 VII、重楼皂苷 II 和重楼皂苷 I；体积流量：0.9 mL/min；进样量：20 μL。理论塔板数按 4 个成分计均不低于 3 000，各峰的分离度均大于 1.5。在上述色谱条件下，样品中其他组分对 4 个成分的测定无干扰，色谱图见图 1。



1-去甲氧基莪果蕨素 2-重楼皂苷 VII 3-重楼皂苷 II 4-重楼皂苷 I
1-demethoxymatteucinol 2-chonglousaponin VII 3-chonglousaponin II 4-chonglousaponin I

图 1 混合对照品 (A)、青贯解毒颗粒 (B)、缺贯众阴性样品 (C) 和缺重楼阴性样品 (D) 的 HPLC 色谱图
Fig. 1 HPLC Chromatograms of reference substance (A), Qingguan Jiedu Granules (B), negative sample without *Dryopteridis Crassirhizomatis Rhizoma* (C) and negative sample without *Paris Rhizoma* (D)

2.5 线性关系考察

分别精密吸取去甲氧基莨菪素、重楼皂苷VII、重楼皂苷II和重楼皂苷I对照品储备液各0.1、0.2、0.5、1.0、2.0 mL，将其置于10 mL量瓶中，并用

乙醇稀释至刻度，摇匀，即得到一系列质量浓度的混合对照品溶液。进样测定。以质量浓度为横坐标，测得的峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，得回归方程，见表1。

表1 4个成分的线性关系
Table 1 Linear relation of four active ingredients

组分	回归方程	r	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
去甲氧基莨菪素	$Y=7.5925 \times 10^5 X+379.1$	0.9999	4.14~82.80
重楼皂苷VII	$Y=6.9414 \times 10^5 X+156.8$	0.9995	3.80~76.00
重楼皂苷II	$Y=1.1349 \times 10^6 X+408.7$	0.9998	4.94~98.80
重楼皂苷I	$Y=1.3517 \times 10^6 X-299.5$	0.9997	7.57~151.40

2.6 精密度试验

取批号20151020青贯解毒颗粒，制备供试品溶液，重复进样6次，记录去甲氧基莨菪素、重楼皂苷VII、重楼皂苷II和重楼皂苷I的峰面积，结果这4个成分峰面积的RSD值分别为1.08%、1.10%、0.92%、0.85%。

2.7 稳定性试验

取批号20151020青贯解毒颗粒，制备供试品溶液，在室温下放置0、1、2、4、8、12 h，进样测定，测定去甲氧基莨菪素、重楼皂苷VII、重楼皂苷II和重楼皂苷I峰面积值，计算得峰面积的RSD值分别为1.02%、1.06%、0.83%、0.76%，结果表明供试品溶液在室温下12 h内是稳定的。

2.8 重复性试验

取批号20151020青贯解毒颗粒样品6份，制备

供试品溶液，进样测定，分别计算青贯解毒颗粒中去甲氧基莨菪素、重楼皂苷VII、重楼皂苷II和重楼皂苷I的质量分数，结果这4个成分质量分数的RSD值分别为1.13%、1.59%、1.06%、0.88%。

2.9 回收率试验

取批号20151020青贯解毒颗粒6份，研细，每份1.5 g，精密称定，分别置6个具塞锥形瓶中，精密加入混合对照品溶液25 mL，制备供试品溶液，进样测定，计算回收率，结果去甲氧基莨菪素、重楼皂苷VII、重楼皂苷II、重楼皂苷I的平均回收率分别为99.26%、97.62%、98.27%、98.90%，RSD值分别为0.87%、1.39%、1.14%、1.15%。

2.10 样品的测定

取3批青贯解毒颗粒样品适量，制备供试品溶液，进样测定，采用外标法计算，结果见表2。

表2 青贯解毒颗粒中去甲氧基莨菪素、重楼皂苷VII、重楼皂苷II和重楼皂苷I的测定结果 (n=3)

Table 2 Determination of demethoxymattheucinol, chonglousaponin VII, chonglousaponin II, and chonglousaponin I in Qingguan Jiedu Granules (n=3)

批号	质量分数/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)			
	去甲氧基莨菪素	重楼皂苷VII	重楼皂苷II	重楼皂苷I
20151020	0.352	0.186	0.821	1.276
20151118	0.358	0.192	0.825	1.293
20151207	0.349	0.193	0.818	1.264

3 讨论

3.1 检测波长的选择

分别取去甲氧基莨菪素、重楼皂苷VII、重楼皂苷II和重楼皂苷I对照品溶液，进行紫外光谱扫描，结果去甲氧基莨菪素在298 nm波长处有较

大的吸收；重楼皂苷VII、重楼皂苷II和重楼皂苷I在203 nm波长处有较大吸收，故选用298、203 nm双波长进行测定，有效地分离并定量了青贯解毒颗粒中的4个有效成分，为青贯解毒颗粒更全面的质量评价和控制提供了参考。

3.2 流动相的选择

分别考察了甲醇-水、乙腈-水、乙腈-0.1%磷酸溶液、甲醇-乙腈(2:1)与水不同比例为流动相进行试验,结果发现采用甲醇-乙腈(2:1)与水为流动相时色谱峰的峰型较好,基线平稳,分离效果理想,故最终选择甲醇-乙腈(2:1)与水不同比例为流动相进行梯度洗脱。同时参考相关文献报道^[3,8],确定梯度洗脱条件,采用HPLC波长切换法在75 min内对去甲氧基莨菪素、重楼皂苷VII、重楼皂苷II、重楼皂苷I同时测定,该方法缩短了分析时间,提高了检测效率,为青贯解毒颗粒质量标准的进一步完善提供了有力依据。

参考文献

- [1] SZBZ20070500-12(Z). 四川省食品药品监督管理局标准[S]. 四川省食品药品监督管理局, 2007.
- [2] 中国药典[S]. 四部. 2015: 7-8, 103-105, 125, 132-134, 241-243.
- [3] 邹亮, 周浓, 赵钢, 等. HPLC测定不同产地滇重楼中的4种重楼皂苷[J]. 华西药学杂志, 2009, 24(5): 521-523.
- [4] 陈锡琨. HPLC测定宫血宁胶囊中重楼皂苷I, II, VI及VII的含量[J]. 中国现代应用药学, 2013, 30(12): 1346-1349.
- [5] 徐丽丽, 赵亮, 张国庆, 等. RP-HPLC法测定重楼中四种甾体皂苷的含量[J]. 药学实践杂志, 2009, 27(3): 201-204.
- [6] 韩燕全, 洪燕, 夏伦祝, 等. UPLC-ELSD法同时测定重楼中重楼皂苷I, II, VI, VII[J]. 中草药, 2012, 43(2): 305-307.
- [7] 罗廷顺, 胡建勇, 孙钢, 等. HPLC法测定重楼种植药材中4种重楼皂苷的含量[J]. 中国药师, 2016, 19(1): 5-7.
- [8] 柳芳, 戴闻韬, 高增平. HPLC法测定不同地区商品贯众中去甲氧基莨菪素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(10): 130-132.
- [9] 尹兴斌, 林龙飞, 张慧, 等. 重楼克感胶囊中重楼皂苷I, II, VI, VII及金丝桃苷含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(15): 58-61.
- [10] 吴珊, 吴卫, 郑有良. 反相高效液相色谱法同时测定重楼药材中4种皂苷的含量[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(8): 1896-1897.
- [11] 李懿, 何佳, 苏豹, 等. HPLC同时测定不同产地滇重楼中的6种重楼皂苷[J]. 中成药, 2012, 34(1): 113-116.