

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.07.010

维药巴那都克布祖热颗粒中京尼平苷酸含量测定*

关永强¹, 古丽娜·沙比尔^{1△}, 阿迪力·艾斯托拉², 凯撒·苏莱曼¹, 石磊岭¹

(1. 新疆维吾尔自治区中药民族药研究所, 新疆 乌鲁木齐 830001; 2. 新疆维吾尔自治区和田地区维吾尔医药研究所, 新疆 和田 848000)

摘要:目的 建立测定巴那都克布祖热颗粒剂中京尼平苷酸含量的高效液相色谱(HPLC)法。方法 色谱柱采用 GEMINI C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 检测波长为 254 nm, 流速为 1 mL/min, 柱温为 30 ℃, 流动相为甲醇(A) - 0.5% 冰醋酸溶液(B), 梯度洗脱。结果 制剂中京尼平苷酸进样量在 0.206 ~ 2.581 μg 范围内与峰面积线性关系良好($r^2 = 0.9999$), 平均加样回收率为 99.75%, RSD 为 0.85% ($n = 6$)。结论 该方法方便简捷、快速准确, 可用于维药巴那都克布祖热颗粒的质量控制。

关键词:巴那都克布祖热颗粒剂; 京尼平苷酸; 高效液相色谱法; 含量测定; 质量标准

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2019)07-0033-03

Content Determination of Geniposidic Acid in Banadukebuzure Granules of Uygur Medicine

GUAN Yongqiang¹, Gulnar SABIR¹, Adil ASTULLA², Kaisa SULAIMAN¹, Shi Leiling¹

(1. Xinjiang Institute of Chinese Material Medical and Ethica, Urumqi, Xinjiang, China 830001; 2. Uygur Medicine Research Institute of Hotan Prefecture, Hotan, Xinjiang, China 848000)

Abstract: Objective To establish an HPLC method for the content determination of geniposidic acid in Banadukebuzure Granules.

Methods The chromatographic column was GEMINI C₁₈ column(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the detection wavelength was 254 nm, the flow rate was 1 mL/min, the column temperature was 30 ℃, and the mobile phase was methol(A) - 0.5% aceticacid aqueous solution(B) with gradient elution. **Results** The geniposidic acid in Banadukebuzure Granules showed good liner relationship in the range of 0.206 - 2.581 μg ($r^2 = 0.9999$), the average recovery rate was 99.75%, RSD was 0.85% ($n = 6$). **Conclusion** The method is simple, rapid and accurate, which can be used for the quality control of Banadukebuzure Granules.

Key words: Banadukebuzure Granules; geniposidic acid; HPLC; content determination; quality control

巴那都克布祖热处方乃维吾尔族沿袭至今的经典用药成方, 记录在维吾尔医药古籍文献《卡拉巴丁·卡地丁》中^[1], 具有清热利尿、消肿止痛、止咳化痰、退热解渴等功效^[2], 用于治疗前列腺炎、膀胱炎、尿道感染等泌尿系统疾病^[3]。该处方由车前子、葫芦巴、菊苣子等 8 味药材组方, 车前子作为清除剂^[4], 起到软坚散结、清除脓性体液及废物、清理尿路、渗湿通淋、止咳平喘等作用^[5-6]。京尼平苷酸为车前子中的主要药用成分, 本研究中采用高效液相色谱(HPLC)法测定巴那都克布祖热颗粒剂中京尼平苷酸的含量^[7-14], 为控制其内在质量提供依据, 也为后续产业化标准的建立打下基础^[15]。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

LC-2010HT 型高效液相色谱仪, LC-2010HT 紫外检测器(日本岛津公司); Mettler Toledo AB265-S 型分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司); UPT-1-5 型

超纯水机(四川优普超纯科技有限公司); 超声清洗器(上海冠特超声仪器有限公司)。

1.2 试药

京尼平苷酸对照品(供含量测定用, 纯度 97.4%, 批号为 111828-201604, 中国食品药品检定研究院); 甲醇(色谱纯, Fisher Scientific 公司); 冰乙酸(分析纯, 天津市天达净化材料精细化工厂); 水为超纯水; 所有药材均购自新疆安萨尔维吾尔药业有限公司; 巴那都克布祖热颗粒(实验室自制, 批号分别为 20160714, 20160715, 20140718)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: GEMINI C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm, 广州菲罗门科学仪器有限公司); 检测波长: 254 nm; 流速: 1 mL/min; 柱温: 30 ℃; 流动相: 甲醇(A) - 0.5% 冰醋酸溶液(B), 过 0.22 μm 微孔滤膜并超声脱气, 梯度洗脱(表 1)。

*基金项目: 新疆维吾尔自治区科研机构创新发展专项基金[2014018]。

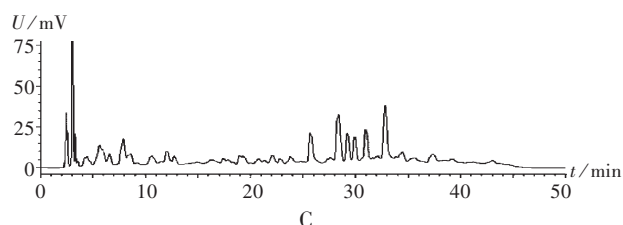
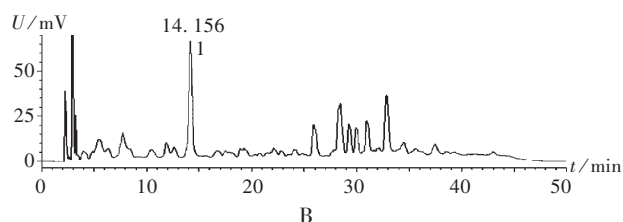
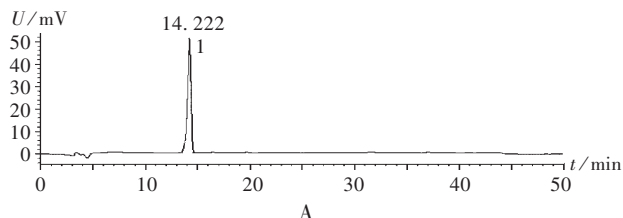
第一作者: 关永强, 男, 满族, 硕士研究生, 助理研究员, 研究方向为天然药物的化学成分, (电子信箱)gyq8925@126.com。

△通信作者: 古丽娜·沙比尔, 女, 维吾尔族, 研究员, 硕士研究生导师, 研究方向为中药质量控制及天然药物活性成分, (电子信箱)gulnar_sabir@163.com。

表1 流动相梯度洗脱表

时间(min)	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0 ~ 1	5	95
1 ~ 40	60	40
40 ~ 50	5	95

分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L, 注入高效液相色谱仪, 按拟订流动相梯度洗脱, 记录色谱图, 详见图 1。结果京尼平苷酸峰理论板数不低于 3 000。



1. 京尼平苷酸

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图1 高效液相色谱图

2.2 溶液制备

取京尼平苷酸对照品适量, 精密称定, 置 25 mL 棕色容量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制得对照品溶液(京尼平苷酸质量浓度为 0.103 24 g/L)。取样品(批号为 20160714)约 1 g, 精密称定, 置 10 mL 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 超声提取 30 min, 静置至室温, 加甲醇至刻度, 摇匀, 过 0.22 μ m 微孔滤膜, 取续滤液, 即得供试品溶液。称取除车前子原料外的其他药材及辅料, 按处方及工艺制备阴性样品, 取 1 g, 精密称定, 置 10 mL 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 超声提取 30 min, 静置至室温, 加甲醇至刻度, 摇匀, 过 0.22 μ m 微孔滤膜, 取续滤液, 即得阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察

线性关系考察: 精密吸取 2.2 项下对照品溶液 2, 5, 10, 15, 20, 25 μ L, 进样测定峰面积。以各对照品进样量(X, μ g)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标绘制标准曲线, 得回归方程 $Y = 787\,630X + 10\,548$, $r^2 = 0.999\,9$ ($n = 6$)。

结果表明, 京尼平苷酸进样量在 0.206 ~ 2.581 μ g 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验: 精密吸取对照品溶液(京尼平苷酸质量浓度为 0.103 g/L)10 μ L, 重复进样 6 次, 测定峰面积。结果的 RSD 为 0.24% ($n = 6$), 表明仪器精密度高。

重复性试验: 取同一批样品(批号为 20160714), 精密称定, 各 6 份。按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 精密进样 10 μ L 测定, 记录峰面积。结果的 RSD 为 1.45% ($n = 6$), 表明方法重复性良好。

稳定性试验: 取样品(批号为 20160714)1 g, 精密称定, 各 6 份。按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 分别于 0, 1, 2, 4, 6, 8 h 时进样测定, 记录峰面积。结果的 RSD 为 1.51% ($n = 6$), 表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

加样回收试验: 取样品(批号为 20160714)0.5 g, 精密称定, 共 6 份。分别加入对照品溶液(京尼平苷酸 0.139 6 g/L)9 mL, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算回收率。结果见表 2。

表2 京尼平苷酸加样回收试验结果($n = 6$)

样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
1.438 5	1.256 4	2.705 7	100.86	99.75	0.85
1.447 5	1.256 4	2.693 8	99.20		
1.487 0	1.256 4	2.726 4	98.65		
1.445 0	1.256 4	2.706 5	100.41		
1.482 0	1.256 4	2.728 6	99.22		
1.445 0	1.256 4	2.703 2	100.14		

2.4 样品含量测定

分别取样品(批号分别为 20160714, 20160715, 20140718)各 1 g, 精密称定, 共 3 份。按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 依次进样测定, 记录峰面积, 计算 3 批样品的京尼平苷酸含量。结果见表 3。

表3 3批样品京尼平苷酸含量测定结果($n = 3$)

批号	保留时间(min)	峰面积	含量(mg/g)	占比(%)
20160714	14.212	2 366 809	2.991 6	0.299
20160715	14.156	2 336 780	2.953 5	0.295
20140718	14.180	2 399 499	3.033 1	0.033

3 讨论

本研究中参考 2015 年版《中国药典(一部)》车前子中京尼平苷酸含量测定的检测方法进行梯度洗脱, 试验中采用甲醇: 0.5% 冰醋酸的流动相进行洗脱, 京尼平苷酸峰在约 14.2 min 时出峰, 在 454 nm 波长处有最大紫外吸收, 理论板数大于 4 000, 且峰形良好。样品中京尼平苷酸出峰时间为 14.2 min, 且样品峰与其他峰分离度好。阴性对照试验表明, 除车前子外的其他原辅料不干扰样品中京尼平苷酸的含量测定。该方法简便、准确、专属性强、灵敏度高, 重复性、精密度等各项指标均良