

# HPLC 法测定栀子及黄芩清肺汤中栀子甙的含量\*

张保献 赵小妹 臧琛 冯青然(中国中医研究院中药研究所 北京 100700)

王桂媛(黑龙江中医药大学 哈尔滨 150040)

**摘要** 采用 MAXSIL 5 C<sub>18</sub> 柱,以甲醇-水-冰乙酸(20:80:1)为流动相,流速 1.0ml/min,检测波长 236nm,对栀子及黄芩清肺汤中栀子甙进行了含量测定。结果表明:该法加样回收率为 102.8±2.2%,RSD 为 1.15%,为栀子及其制剂中之栀子甙提供了简便易行、准确精密的含量测定方法。

**关键词** HPLC 法 栀子 黄芩清肺汤 栀子甙

## Determination of Geniposide in Fructus Gardeniae and Huangqin Qingfei Decoction by HPLC

Zhang Baoxian, Zhao Xiaomei, Zang Chen, Feng Qingran

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of TCM, Beijing, 100700)

Wang Guiyuan (Heilongjiang University of TCM, Haerbin, 150040)

**Abstract:** Using Maxsil 5 C<sub>18</sub> column, the contents of Geniposide in Fructus Gardeniae and Huangqin Qingfei decoction were determined by HPLC with a mobile phase of methanol-water-acetic acid (20:80:1), at a wavelength of 236nm. The results showed that its recovery rate was 102.8±2.2% with RSD of 1.15%.

**Key words:** HPLC, Fructus Gardeniae, Huangqin Qingfei decoction, geniposide

栀子及其制剂中栀子甙的含量测定现多采用 HPLC 法。但一般经三氧化二铝<sup>[1]</sup>或硅胶柱精制后进样,采用磷酸缓冲液、甲醇<sup>[2]</sup>、乙腈-四氢呋喃-水<sup>[3]</sup>或磷酸氢二钠-乙腈梯度洗脱<sup>[4]</sup>,有成本高、操作复杂、不易重复,且上柱处理后栀子甙损失等缺点。我们根据课题的需要,采用甲醇提取后直接进样,以甲醇

-水-冰乙酸为流动相洗脱,成功地测定了栀子及黄芩清肺汤中栀子甙的含量,具有成本低、操作简便、结果准确的优点。

### 1 实验部分

**1.1 仪器与药品** Waters 高效液相色谱仪: Millipore。MAXSIL 5 C<sub>18</sub> 柱(250×4.6mm, 5μ): Phenomenex。栀子甙: 中国生物制品药品检定所(HPLC 法检测为单一峰)。黄芩、栀子: 购于同仁堂药店。甲醇: 北京

\* 国家中医药管理局资助课题

化工厂, 优级纯。冰乙酸: 北京化工厂, 分析纯。

1.2 样品溶液的制备

1.2.1 梔子甙标准溶液 精密称取梔子甙 2.9mg, 溶于甲醇, 并用甲醇定容至 10ml, 即得梔子甙标准溶液, 浓度 290 $\mu$ g/ml。

1.2.2 梔子样品液 取梔子粉碎后, 过 40 目筛。称取梔子粗粉 0.2g 置 50ml 鸡心瓶中, 加 30ml 甲醇, 回流提取 3 次, 每次 2h。合并甲醇液, 并用甲醇定容至 100ml, 即得梔子样品液。

1.2.3 黄芩清肺汤样品液: 取黄芩、梔子各 20g 捣碎。加沸水 8 倍量, 煎煮 2 次, 每次 1h。合并煎液, 浓缩, 减压干燥得干浸膏粉 (12.5g)。取干浸膏粉 0.1g, 置 50ml 鸡心瓶中, 加甲醇 30ml 回流 3 次, 每次 2h。合并甲醇液, 并用甲醇液定容至 100ml, 即得黄芩清肺汤样品液。

1.3 色谱条件的确定

1.3.1 检测波长的确定 取少许梔子甙, 溶于适量甲醇中, 于岛津 UV-3000 型紫外分光光度计上扫描其紫外吸收光谱,  $\lambda_{max}$  为 236nm, 故确定梔子甙的检测波长为: 236nm。

1.3.2 色谱条件的确定 经多次摸索, 确定色谱条件为: 色谱柱: MAXSIL 5 C<sub>18</sub>; 流动相: 甲醇-水-冰乙酸 (20 : 80 : 1); 流速: 1.0ml/min; 灵敏度: 0.5AUFS; 检测波长 236nm。在上述色谱条件下, 分别取梔子甙标准溶液、梔子样品液和黄芩清肺汤样品液进样, 其色谱图见图 1。

1.4 工作曲线的制作 取梔子甙标准溶液 (290 $\mu$ g/ml), 依次用甲醇稀释为: 145 $\mu$ g/ml、

58 $\mu$ g/ml、29 $\mu$ g/ml、5.8 $\mu$ g/ml。在仪器测量条件下, 分别取上述标准溶液进样, 每针 10 $\mu$ l, 以进样量对面积进行线性回归得回归方程为:  $A = 7533537C - 111474$ ,  $r = 0.9999$  说明进样量在 0.058~2.900 $\mu$ g 间线性良好。

1.5 精密度的测定 取梔子甙标准溶液 (58 $\mu$ g/ml) 在仪器条件下进样, 每针 10 $\mu$ l, 共进 6 针。所得面积经计算  $RSD = 1.15\%$ 。

1.6 稳定性实验 取梔子样品液 10ml 离心 (3000 转/min) 后在仪器条件下分别在 0、8、12、24、48h 进样, 每针 10 $\mu$ l, 峰面积经计算  $RSD = 0.05\%$ 。说明梔子甙在 48h 内稳定。

1.7 样品测定

1.7.1 梔子中梔子甙的含量测定 取梔子粉碎后过 40 目筛, 称取 0.2g, 按上述梔子样品液项下方法制备梔子样品液。共做 3 个平行试验, 即得 3 个梔子样品液, 放置过夜。各取 10ml, 离心 (3000 转/min) 后直接在仪器测量条件下进样, 结果见表 1。

表 1 梔子中梔子甙含量测定数据表

称样量(g)	进样量( $\mu$ l)	含量(mg/g)	$\bar{x} \pm s$	RSD(%)
0.2	10	43.26		
0.2	10	42.84	44.17 $\pm$ 1.59	3.60
0.2	10	46.41		

1.7.2 黄芩清肺汤中梔子甙的含量测定 取黄芩、梔子各 20g, 捣碎后按上述黄芩清肺汤样品液项下方法制备黄芩清肺汤样品液。共做 3 个平行实验, 得 3 个黄芩清肺汤样品液, 放置过夜, 分别取 10ml 离心 (3000 转/min) 后直接在仪器测量条件下进样, 结果见表 2。

表 2 黄芩清肺汤中梔子甙含量测定数据表

称样量(g)	进样量( $\mu$ l)	含量(mg/g)	$\bar{x} \pm s$	RSD(%)
0.1	10	22.45		
0.1	10	22.53	21.93 $\pm$ 0.79	3.60
0.1	10	20.81		

1.8 加样回收率的测定 取梔子粉碎后过 40 目筛, 称取 3 份 0.2g, 分别置于 50ml 鸡心瓶中, 各加入一定量的梔子甙标准品, 按梔子中梔子甙含量测定项下方法制备样品液并测

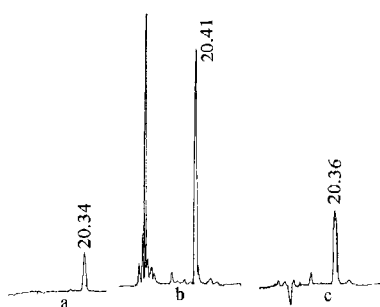


图 1 HPLC 色谱图

- a. 梔子甙标准品
- b. 梔子样品
- c. 黄芩清肺汤样品

定。计算加样回收率,其结果见表3。

表3 加样回收率数据表

称样量(g)	加栀子甙量(mg)	进样量( $\mu$ l)	回收率(%)	$\bar{x} \pm s$ (%)	RSD(%)
0.2	2.8	10	105.0		
0.2	2.8	10	99.8	$102.8 \pm 2.2$	2.14
0.2	2.8	10	103.7		

## 2 讨论

**2.1** 本文采用甲醇提取后直接进样的方法,省去了上柱精制,操作简单,结果准确;又采用甲醇-水-冰乙酸为流动相,克服了磷酸缓冲液、乙氰、六氢吡喃等流动相造成的操作麻烦、成本高的缺点,为栀子及其制剂中栀子甙的含量测定提供了一个简单、准确的方法。

**2.2** 根据文献<sup>[3,4]</sup>资料,采用甲醇为溶媒,对栀子和黄芩清肺汤进行回流提取,提取时对提取次数进行了考察,结果表明:第4次(每

次回流2h)提取液中栀子甙的含量仅为前3次提取总量的0.6%,可认为提取3次即提尽。故采用甲醇提取3次,每次2h的提取方法。

## 参考文献

- 1 邵爱新,陆蕴如,陈德昌. 薄层扫描测定清热解毒口服液中栀子甙的含量. 药物分析杂志, 1991,11(3):150
- 2 童玉懿,章观德,相乐和彦,等. 栀子及其制剂中栀子甙的高压液相色谱分析. 中国中药杂志, 1989,14(4):36
- 3 Miyaygoshi M. et al. J. Chromatogr, 1989, 357(2):293
- 4 刘燕,吕高荣,鲁静,等. 栀子中环烯醚萜甙类成分的HPLC含量测定. 中国中药杂志, 1993,18(5):298

(收稿:1997-05-20)