

HPLC 测定莲栒清火胶囊中梔子苷、穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的含量

孟宪波*

(淄博市食品药品检验所, 山东 淄博 255086)

[摘要] 目的:建立高效液相色谱法同时测定莲栒清火胶囊中梔子苷、穿心莲内酯及脱水穿心莲内酯含量的方法。方法:ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-水梯度洗脱, 检测波长 254 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹。结果:梔子苷在 0.075 8 ~ 2.274 0 μg ($r=1$) 线性关系良好, 平均回收率 99.73%, RSD 1.4%; 穿心莲内酯在 0.046 1 ~ 1.383 0 μg ($r=1$) 线性关系良好, 平均回收率 100.51%, RSD 1.2%; 脱水穿心莲内酯在 0.040 9 ~ 1.227 0 μg ($r=1$) 线性关系良好, 平均回收率为 101.19%, RSD 1.2%。结论:方法简便、快速、重复性好, 可用于莲栒清火胶囊的质量控制。

[关键词] 莲栒清火胶囊; 梔子苷; 穿心莲内酯; 脱水穿心莲内酯; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)14-0155-03

[doi] 10.11653/syfy2013140155

HPLC Determination of Geniposide, Andrographolide and Dehydroandrographolide in Lianzhi Qinghuo Capsules

MENG Xian-bo*

(Zibo Institute for Food and Drug Control, Zibo 255086, China)

[Abstract] **Objective:** To establish an HPLC method for the simultaneous determination of geniposide, andrographolide and dehydroandrographolide in Lianzhi Qinghuo capsules. **Method:** Geniposide, andrographolide and dehydroandrographolide were separated on ZORBAX SB-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column and detected at 254 nm. The mobile phase was methanol-water with gradient elution. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. **Result:** Geniposide, andrographolide and dehydroandrographolide were linear within the range of 0.075 8-2.274 0 μg ($r=1$), 0.046 1-1.383 0 μg ($r=1$) and 0.040 9-1.227 0 μg ($r=1$) respectively. The average recovery was 99.73% (RSD 1.4%), 100.51% (RSD 1.2%) and 101.19% (RSD 1.2%). **Conclusion:** The method is simple, reproducible, and it can be used for the quality control of Lianzhi Qinghuo capsules.

[Key words] Lianzhi Qinghuo capsules; geniposide; andrographolide; dehydroandrographolide; HPLC

莲栒清火胶囊为中药复方制剂,由穿心莲、梔子、天冬等 5 味药组成,具有清热解毒、凉血消肿的功效,主要用于咽喉肿痛、发热牙痛、目赤等症。方中穿心莲清热解毒、凉血、消肿,梔子清热利湿、凉血解毒、并引热下行,二者均发挥重要作用。梔子苷具有抗病毒、保肝利胆、镇痛抗炎^[1-5]等作用,是梔子中的主要活性成分;穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯具有解热抗炎、抗菌、抗病毒、保肝利胆、

抗肿瘤及抗心血管疾病^[6-7]等作用,是穿心莲中的主要活性成分。故采用高效液相色谱法,对该制剂中梔子苷、穿心莲内酯及脱水穿心莲内酯进行了含量测定,以便为控制该制剂的质量提供依据。

1 材料

LC-20AT 型高效液相色谱仪,SPD-20A UV/VIS 检测器(日本岛津公司);METTLER AE240 型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司),KS-300E 型超声波清洗机(宁波科生仪器厂)。

梔子苷对照品(批号 110749-200714)、穿心莲内酯对照品(批号 110797-200307)、脱水穿心莲内酯对照品(批号 110854-201007)购自中国药品生物

[收稿日期] 20120104(021)

[通讯作者] *孟宪波,主管中药师,从事药品检验工作, Tel: 13506441422, E-mail: mxianbo@126.com

制品检定所, 莲栀清火胶囊 3 批, 淄博市中医医院提供, 批号分别为 110721, 110823, 110920; 甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相 A 为甲醇, B 为水, 梯度洗脱 (0 ~ 5 min, 25% A; 5 ~ 20 min, 25% ~ 40% A; 20 ~ 35 min, 40% A), 流速 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长 254 nm, 柱温 40 °C。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 分别取栀子苷对照品、穿心莲内酯对照品和脱水穿心莲内酯对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 各含 0.075 8, 0.046 1, 0.040 9 mg 的混合溶液, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品装量差异项下的内容物, 研匀, 取约 0.26 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 密塞, 称定质量, 浸渍 1 h, 超声处理 (功率 220 W, 频率 33 kHz) 30 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

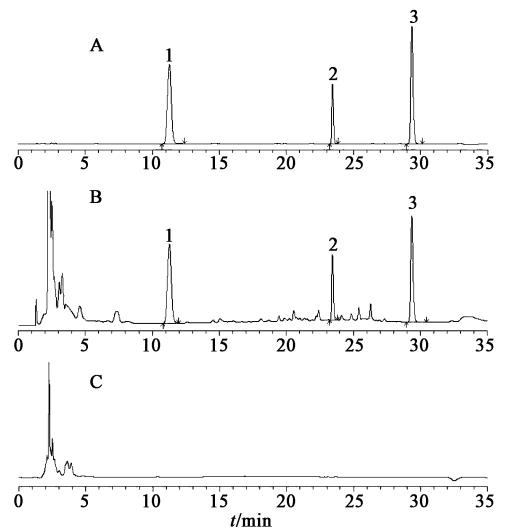
2.2.3 阴性对照溶液的制备 取处方中除穿心莲和栀子外的其他药味, 按莲栀清火胶囊制备方法制成阴性样品, 按 2.2.2 项下方法操作, 制备阴性对照溶液。

2.3 专属性试验 分别精密吸取上述对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 记录色谱图。供试品中栀子苷、穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯色谱峰与相应对照品色谱峰保留时间一致, 其他组分对测定无干扰 (图 1)。

2.4 线性关系考察 精密吸取对照品溶液 1, 5, 10, 20, 30 μL 进样, 测定峰面积。以进样量 (μg) 对峰面积 (A) 进行线性回归, 得栀子苷回归方程为 $Y = 989\ 170X - 3\ 119$ ($r = 1$); 穿心莲内酯回归方程为 $Y = 499\ 106X - 879$ ($r = 1$); 脱水穿心莲内酯回归方程为 $Y = 2 \times 10^6 X - 3\ 974$ ($r = 1$)。栀子苷、穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯分别在 0.075 8 ~ 2.274 0, 0.046 1 ~ 1.383 0, 0.040 9 ~ 1.227 0 μg 线性关系良好。

2.5 精密度试验 分别精密吸取对照品溶液 10 μL, 连续进样 6 次, 计算栀子苷、穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯峰面积的 RSD 分别为 0.12%, 0.12%, 0.15%, 表明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验 取同一批 (110721) 供试品 6 份, 分别按 2.2.2 项下方法制备, 以 2.1 项下色谱条



A. 对照品; B. 样品; C. 阴性对照;

1. 栀子苷; 2. 穿心莲内酯; 3. 脱水穿心莲内酯

图 1 莲栀清火胶囊 HPLC

件进样 10 μL, 结果栀子苷平均质量分数为 6.255 9 mg · g⁻¹, RSD 0.62%; 穿心莲内酯平均质量分数为 4.375 5 mg · g⁻¹, RSD 1.0%; 脱水穿心莲内酯平均质量分数为 3.224 8 mg · g⁻¹, RSD 1.9%, 表明本法重复性良好。

2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液, 分别在 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 各进样 10 μL, 测定栀子苷、穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的峰面积, RSD 分别为 0.15%, 0.26%, 0.25%。表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.8 加样回收试验 取同一批 (批号 110721, 栀子苷、穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯质量分数分别为 6.243 4, 4.367 5, 3.164 8 mg · g⁻¹) 供试品适量, 精密称定, 共 9 份, 3 份分别精密加入对照品溶液 5 mL 及甲醇 20 mL, 3 份分别精密加入对照品溶液 10 mL 及甲醇 15 mL, 3 份分别精密加入对照品溶液 15 mL 及甲醇 10 mL, 按 2.2.2 项下方法制备, 测定栀子苷、穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的含量, 平均回收率分别为 99.73%, 100.51%, 101.19%, RSD 分别为 1.4%, 1.2%, 1.2%。结果表明本法的准确度较好 (表 1)。

2.9 样品测定 取不同批号的样品, 分别按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件进样测定 (表 2)。

3 讨论

曾以甲醇-水为流动相以不同的比例进行试验, 但因栀子苷与穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯的极性

表 1 莲栀清火胶囊加样回收

化合物	称样量	样品含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
栀子苷	0.152 0	0.949 0	0.379 0	1.324 2	99.00	99.73	1.4
	0.149 8	0.935 3	0.379 0	1.317 3	100.79		
	0.150 5	0.939 6	0.379 0	1.325 8	101.90		
	0.153 9	0.960 9	0.758 0	1.707 2	98.46		
	0.152 4	0.951 5	0.758 0	1.704 1	99.29		
	0.157 8	0.985 2	0.758 0	1.752 8	101.27		
	0.151 1	0.943 4	1.137 0	2.057 4	97.98		
	0.158 3	0.988 3	1.137 0	2.111 4	98.78		
	0.148 8	0.929 0	1.137 0	2.067 5	100.13		
	穿心莲内酯	0.152 0	0.663 9	0.230 5	0.898 2		
0.149 8		0.654 3	0.230 5	0.889 9	102.21		
0.150 5		0.657 3	0.230 5	0.886 1	99.26		
0.153 9		0.672 2	0.461 0	1.135 8	100.56		
0.152 4		0.665 6	0.461 0	1.131 9	101.15		
0.157 8		0.689 2	0.461 0	1.150 6	100.09		
0.151 1		0.659 9	0.691 5	1.342 6	98.73		
0.158 3		0.691 4	0.691 5	1.381 9	99.86		
0.148 8		0.649 9	0.691 5	1.349 1	101.11		
脱水穿心莲内酯		0.152 0	0.481 0	0.204 5	0.687 6	101.03	101.19
	0.149 8	0.474 1	0.204 5	0.678 8	100.10		
	0.150 5	0.476 3	0.204 5	0.685 9	102.49		
	0.153 9	0.487 1	0.409 0	0.907 8	102.86		
	0.152 4	0.482 3	0.409 0	0.891 9	100.15		
	0.157 8	0.499 4	0.409 0	0.918 8	102.54		
	0.151 1	0.478 2	0.613 5	1.091 5	99.97		
	0.158 3	0.501 0	0.613 5	1.116 5	100.33		
	0.148 8	0.470 9	0.613 5	1.091 8	101.21		

表 2 莲栀清火胶囊样品含量测定 mg/粒

批号	栀子苷	穿心莲内酯	脱水穿心莲内酯
110721	1.630 7	1.140 8	0.826 6
110823	1.646 3	1.155 9	0.863 8
110920	1.635 6	1.144 1	0.842 1

相差较大,无法获得较好的分离效果。后采用以甲醇-水为流动相进行梯度洗脱,获得了较好的分离效果。

穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯和栀子苷的测定波长多分别采用 225,254,238 nm。试验中在 3 个波长处分别进行了测定,结果在 254 nm 波长处 3 者吸收峰均较理想。亦有文献^[8-9]报道采用多波长转换同时测定这 3 种成分的含量,但较为繁琐,故试验采用 254 nm 作为测定波长。

参考文献[10],试验中采用甲醇作为提取溶媒,对不同超声处理时间和溶媒用量进行了对比,试验结果表明加甲醇 25 mL、超声处理 30 min 已提取完全,因此选择此种方法用于供试品溶液的制备。

[参考文献]

[1] 刘益华,李晶,林曼婷,等. 栀子有效成分栀子苷的现代研究进展[J]. 中国药学杂志, 2012, 47(6):406.

[2] 董婉茹,刘洪毓,丁雅光,等. 栀子在治疗肝脏疾病中的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(23):250.

[3] 游伟良,平其能,孙敏捷,等. 栀子苷的药理学研究新进展[J]. 药学进展, 2012, 36(4):158.

[4] 张海燕,邬伟魁,杨军宣,等. 栀子对心脑血管系统的作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(14):294.

[5] 张文娟,李茂星,张泉龙,等. 栀子苷的快速提取分离及其镇痛抗炎作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(21):170.

[6] 李志亨,路新华,龙晓英,等. 穿心莲总内酯的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(11):2854.

[7] 黄志华,曾雪亮,裘莉莉,等. 穿心莲内酯对异丙肾上腺素诱导的心肌肥厚大鼠血管活性物质的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(12):166.

[8] 郭敏,钟保恒,李可林. HPLC 法同时测定清火栀麦胶囊中脱水穿心莲内酯和栀子苷的含量[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(11):1921.

[9] 蓝晓玉,林华. HPLC 法同时测定清火栀麦片中 3 种有效成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(2):228.

[10] 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, 2010:231, 251.

[责任编辑 顾雪竹]