

RP-HPLC 法测定清肝利胆胶囊中栀子苷

陈伟康¹, 方建和^{2*}, 丁银平¹

(1. 江西省食品药品检验所, 南昌 330046; 2. 江西中医学院, 南昌 330004)

[摘要] 目的: 建立 RP-HPLC 法测定清肝利胆胶囊中栀子苷的含量。方法: 采用 Diamonsil C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 乙腈-水 (10:90) 为流动相, 检测波长为 238 nm, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 25℃。结果: 栀子苷在 0.054 48 ~ 1.634 4 μg 进样量与峰面积呈良好的线性关系 ($r = 0.999 9$), 平均加样回收率 ($n = 6$) 为 99.77%。结论: 本测定方法简便、快速、准确, 可对清肝利胆胶囊质量进行控制。

[关键词] 清肝利胆胶囊; 栀子苷; 高效液相色谱法; 含量测定

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)07-0071-03

Determination of Geniposide in Qinggan Lidan capsule by RP-HPLC

CHEN Wei-kang¹, FANG Jian-he^{2*}, DING Yin-ping¹

(1. Jiangxi Institute for Drug and Food Control, Nanchang 330046, China;

2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a RP-HPLC method for the determination of Geniposide in Qinggan Lidan capsule. **Method:** Diamonsil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) was used, the mobile phase was acetonitrile-water (10:90) at a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. The UV detection wavelength was at 238 nm, and the column temperature was at 25℃. **Result:** The linear range was 0.054 48 ~ 1.634 4 μg ($r = 0.999 9$) for Geniposide. The average recovery ($n = 6$) was 99.77%. **Conclusion:** The method is found to be simple and accurate for analysis of Geniposide in Qinggan Lidan capsule.

[Key words] Qinggan Lidan capsule; geniposide; HPLC; determination

清肝利胆胶囊由茵陈、金银花、栀子、厚朴、防己 5 味中药加工制成, 具有清利肝胆湿热之功效; 主治纳呆、肋痛、疲倦乏力、尿黄、苔腻、脉弦、肝郁气滞、肝胆湿热未清等证^[1]。方中栀子为茜草科植物栀子的干燥成熟果实, 具有泻火除烦、清热利尿、凉血解毒之功效^[2], 中医临床常用于治疗黄疸型肝炎^[3], 其中含京尼平苷、山栀子苷、脱乙酰车叶草苷酸甲酯、栀子苷等成分^[4]。本文采用 RP-HPLC 法测定清肝利胆胶囊中栀子苷的含量, 方法简便、灵敏、重现性良好, 可用于该制剂的质量控制。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪 Agilent1100 系列, G1311A 四元泵, G1315B DAD 检测器, 全自动进样器, Agilent 化学色谱工作站。Sartorius BP211D 电子天平。栀子苷对照品 (批号为 110749-200410, 供含量测定用), 购于中国药品生物制品检定所。乙腈为色谱纯, 水为 Millipore 制备的超纯水, 其他试剂均为分析纯。样品清肝利胆胶囊, 天施康中药股份有限公司余江分公司提供 (批号 090206, 090306, 090307)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性 Diamonsil C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 乙腈-水 (10:90) 为流动相, 检测波长为 238 nm, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 柱温为 25℃; 进样量为 10 μL, 栀子苷理论板数应不低于 3 000。

[收稿日期] 20100312(004)

[第一作者] 陈伟康, 硕士, 主管药师, 主要从事药品质量分析研究; E-mail: cwkjx@sohu.com

[通讯作者] * 方建和, 硕士, 助教, 主要从事中药制剂研究; E-mail: jxfjh0608@yahoo.com.cn

2.2 对照品溶液的制备 精密称取栀子苷对照品 18.16 mg 置 100 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密量取上述对照品溶液 3 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 制成对照品溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备 取装量差异项下的本品, 研细, 取约 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 50 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理(功率 250 W, 频率 25 kHz) 30 min, 放冷, 再称定质量, 用 50% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 阴性对照溶液的制备 按清肝利胆胶囊处方和方法制备工艺制得缺栀子的阴性样品, 精密称取 0.5 g, 按供试品溶液制备方法制备缺栀子阴性样品供试品溶液, 测定, 结果供试品色谱中在与对照品相应位置无干扰。

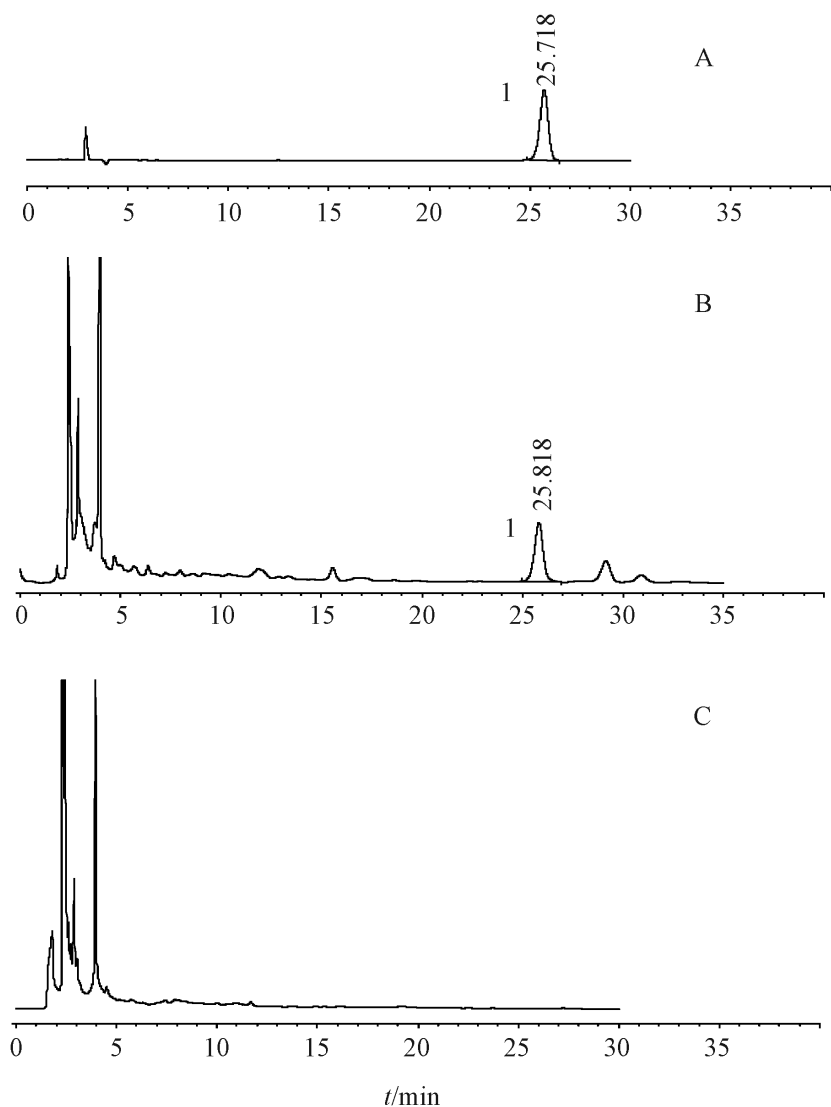


图 1 栀子苷对照品(A)、清肝利胆胶囊(B)和阴性样品(C)色谱图
1. 栀子苷

2.5 标准曲线及线性范围考察 精密吸取对照品溶液($0.05448 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) 1, 5, 10, 15, 20, 30 μL , 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件测定峰面积, 分别以栀子苷峰面积积分值为纵坐标, 对照品进样量为横

坐标, 绘制标准曲线, 栀子苷回归方程为 $Y = 1.48 \times 10^3 X - 1.77$, $r = 0.9999$, 结果栀子苷在 $0.05448 \sim 1.6344 \mu\text{g}$ 呈良好线性。

2.6 溶液稳定性试验 精密吸取供试品溶液(批号 090206), 按 2.1 项下液相色谱条件, 每隔一定时间进样 1 次, 结果供试品溶液中栀子苷在 24 h 内峰面积无明显变化, 其峰面积相对标准偏差分别为 1.1%。

2.7 对照品溶液精密试验 精密吸取供试品溶液 10 μL , 按上述液相色谱条件, 重复进样 6 次, 记录色谱图, 结果表明, 仪器精密度良好, 栀子苷峰面积 RSD 为 0.1%。

2.8 重复性试验 取同一批号(批号 090206)样品, 按供试品溶液制备方法制备 6 份, 分别进样, 测定, 即得。结果测得栀子苷平均质量分数为 $8.2633 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ($n=6$), RSD 为 0.6%。

2.9 加样回收率试验 取已知含量的样品(批号 090206) 0.25 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密添加加入栀子苷对照品 50% 甲醇溶液(浓度为 $36.32 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 50 mL, 按供试品溶液项下方法操作, 测定, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 栀子苷回收率试验

称样量 /g	制剂中栀子苷的量 /mg	添加栀子苷的量 /mg	测出栀子苷的量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
0.2501	2.0667	1.816	3.8669	99.13	99.77	1.3
0.2494	2.0609	1.816	3.8496	98.50		
0.2501	2.0667	1.816	3.8860	100.18		
0.2541	2.0997	1.816	3.8901	98.59		
0.2503	2.0683	1.816	3.8940	100.53		
0.2517	2.0799	1.816	3.9263	101.67		

2.10 样品测定 取清肝利胆胶囊, 按供试品溶液制备项下方法操作, 并按上述色谱条件, 测定含量, 结果栀子苷的含量见表 2。

表 2 3 批清肝利胆胶囊栀子苷

批号	栀子苷含量 / (mg / 粒)	RSD / %
090206	2.891	0.6
090208	2.235	0.9
090210	2.201	0.8

3 讨论

该品种标准收载于国食药监局国家药品标准新药转正标准第 38 册, 标准编号为: WS3-183(Z-183)-2002(Z)。原标准中含量测定项为测定厚朴中厚朴

酚与和厚朴酚的含量,因其提取工艺为水煎煮,测得厚朴酚与和厚朴酚得率非常低(低于万分之一),测定其含量没有实际意义。方中栀子具有泻火除烦,清热利尿,凉血解毒之功效,故改测栀子中栀子苷的含量,该品种标准经本单位修订后,收入《中国药典》2010 年版。

色谱条件比较了乙腈-水(10:90)与甲醇-水(20:80)^[5]为流动相,以乙腈-水(10:90)柱压低,分离效果好,故选用了乙腈-水(10:90)为流动相。

本试验比较了甲醇、50% 甲醇、乙醇、50% 乙醇,结果发现 50% 甲醇提取得率较高,且《中国药典》2005 年版也是采用 50% 甲醇提取^[2],故选用 50% 甲醇提取;在比较加热回流与超声提取这两种提取方式过程中发现,两者所得结果并无差异,因超声提取操作简便,所以选择超声提取供试品;并在选择超

声提取的基础上,分别比较超声处理 20, 30, 40 min,结果以超声提取 30 min 较为合理。

[参考文献]

- [1] 国家食品药品监督管理局. 新药转正标准[S]. 第 38 册:63.
- [2] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 2005:173.
- [3] 陈明, 龙子江, 王靓. 栀子提取物保肝利胆作用的实验研究[J]. 中医药临床杂志, 2006, 18(6):610.
- [4] 郑虎占, 董泽宏, 余靖, 等. 中药现代研究与应用[M]. 北京:学苑出版社, 1998:225.
- [5] 林瑞群, 姚五湖. HPLC 法测定清肺抑火片中栀子苷的含量[J]. 中药新药与临床药理, 2009, 20(2):161.

[责任编辑 顾雪竹]

《中国实验方剂学杂志》入编中文核心期刊信息

依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、计算和分析,以及学科专家评审,《中国实验方剂学杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2008 年版(即第五版)之中国医学类的核心期刊。该核心期刊按《中国图书馆分类法》的学科体系,列出了 73 个学科的核心期刊表,并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括:题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN 号、CN 号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。该研究成果只是一种参考工具书,主要是为图书情报部门对中文期刊的评估与订购、为读者导读提供参考。