

高效液相色谱法测定乌军治胆片中栀子苷的含量

周海*, 莫静嫦

(广西玉林制药有限责任公司, 广西 玉林 537001)

[摘要] 目的: 建立乌军治胆片(乌梅、栀子、大黄、佛手)中栀子苷含量测定的方法。方法: 采用 HPLC 法, 以 YWG-C₁₈ 柱为固定相, 甲醇-0.1% 磷酸溶液(15: 85)为流动相, 检测波长: 240 nm。结果: 栀子苷在(0.02~0.20) mg·mL⁻¹ ($r=0.9999$) 的浓度范围内呈良好的线性关系, 平均加样回收率栀子苷 95.8% RSD=1.8% ($n=6$)。结论: 含量测定方法简便准确, 重复性好, 可用于控制乌军治胆片的质量。

[关键词] 乌军治胆片; 栀子苷; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)10-0006-03

Determination of Geniposide in Wujunzhdan Tablet by HPLC

ZHOUHai*, MO Jing-chang

(Guangxi Yulin Pharmaceutical Co., Ltd, Yulin 537001, China)

[Abstract] **Objective:** To develop an HPLC method for the determination of geniposide in Wujunzhdan Tablet (Fructus Mume, Fructus Gardeniac, Radix et Rhizoma Rhei, Fructus Citri Sarcodactylis). **Method:** Samples were separated on a YWG-C₁₈ column with the mobile phase of methanol-0.1% H₃PO₄ (15: 85) and the detection wavelength was set at 240 nm. **Result:** The calibration curve was linear in the range of (0.02~0.20) mg·mL⁻¹ ($r=0.9999$) for geniposide. The average recovery was 95.8%, RSD = 1.8% ($n=6$). **Conclusion:** The method is accurate and reproducible, and can be used for the quality control of Wujunzhdan Tablet.

[Key words] Wujunzhdan Tablet; geniposide; HPLC

乌军治胆片由乌梅、栀子、大黄、佛手、牛至、威灵仙等中药材制成, 具有疏肝解郁, 利胆排石, 清里泄热, 理气止痛的功效; 而栀子作为主药之一, 选择栀子中的栀子苷作为定量的指标, 可以较好地控制该产品的质量。

1 仪器、试剂与样品

高效液相色谱仪: 日本岛津 LC-10AD 泵, SPD-10AV 紫外检测器, C-R7Ae 数据处理机; 超声波提取器 CQF-1-6(中船七院七二六所)。甲醇为色谱纯, 磷酸为分析纯; 水为去离子水。栀子苷对照品由中国药品生物制品检定所提供(批号: 110749-200512); 乌

军治胆片由广西玉林制药有限责任公司生产。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱为 YWG-C₁₈ (4.0 mm × 250 mm, 10 μm); 流动相: 甲醇-0.1% 磷酸溶液(15: 85), 流速: 1.0 mL·min⁻¹, 柱温: 30 °C, 检测波长: 240 nm, 进样量 10 μL。

2.2 对照品溶液制备 取栀子苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.06 mg 溶液。

2.3 供试品溶液制备 取乌军治胆片 20 片, 除去糖衣, 研细, 混匀, 取约 1 g, 精密称定, 加甲醇 30 mL, 超声提取 20 min, 放冷, 滤过, 滤液置 50 mL 量瓶中, 用少量甲醇分次洗涤容器与残渣, 洗液滤入同一量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 标准溶液制备与线性考察 精密称取对照适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.2 mg 溶液作为贮备液。

[收稿日期] 2008-01-14

[通讯作者] * 周海, Tel: (0775) 3892033; Email: zhzhazha@126.com

精密量取贮备液 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 mL 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 各取 10 μ L, 在上述色谱条件下, 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 以峰面积为纵坐标, 栀子苷浓度为横坐标绘制标准曲线, 得回归方程为 $Y = 5.83 \times 10^6 X + 3.24 \times 10^2$, $r = 0.9999$ ($n = 6$), 实验表明: 栀子苷在 (0.02 ~ 0.20) $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度范围内呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验 取同一份供试品溶液, 在上述色谱条件下, 精密吸取 10 μ L, 注入液相色谱仪, 重复进样 5 次, 测定每次进样的峰面积, 结果峰面积的 RSD 为 0.57%。

2.6 稳定性试验 吸取供试品溶液 10 μ L, 在上述色谱条件下, 于 0, 1, 4, 8, 12, 24 h, 分别注入液相色谱仪, 测定栀子苷峰面积, 结果栀子苷峰面积 RSD% = 1.4, 说明供试品溶液中在 24 h 内稳定。

2.7 重复性试验 取同一批号的乌军治胆片样品 5 份, 按供试品溶液制备项下操作, 制备 5 份供试品溶液, 在上述色谱条件下, 分别吸取 10 μ L 注入液相色谱仪, 测得栀子苷的平均含量为 2.18 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 为 2.0% ($n = 5$)。

2.8 回收率试验 精密称取已知栀子苷含量 (2.6824 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) 的乌军治胆片样品 6 份, 分别准确加入栀子苷对照品溶液 (2.80 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 各 1 mL, 按供试品溶液制备项下操作, 制备 6 份供试品溶液, 在上述色谱条件下, 分别吸取 10 μ L 注入液相色谱仪, 结果见表 1。

表 1 回收率试验结果

样品中栀子苷含量(mg)	栀子苷加入量(mg)	栀子苷测得量(mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
2.72	2.80	5.44	97.1	95.8	1.8
2.76	2.80	5.42	95.0		
2.68	2.80	5.30	93.6		
2.84	2.80	5.48	94.3		
2.84	2.80	5.56	97.1		
2.72	2.80	5.46	97.9		

2.9 样品测定 精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μ L, 注入液相色谱仪, 记录峰面积, 根据对照品栀子苷的峰面积, 计算出样品中栀子苷的含量 (见表 2)。栀子苷对照品、样品、阴性样品 (缺栀子) 色谱图见图 1。

3 讨论

在提取条件的选定过程中, 我们曾采用过索氏

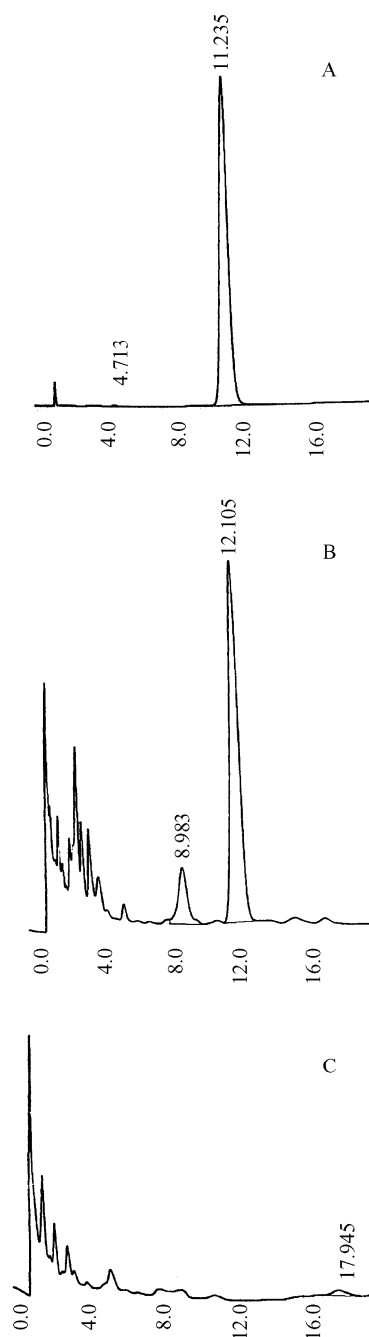


图 1 乌军治胆片高效液相色谱图

A 栀子苷对照品; B 乌军治胆片样品; C 阴性样品

表 2 样品测定结果 ($n = 3$)

批号	栀子苷含量 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	RSD (%)
637003	2.41	1.3
637004	2.68	2.1
637007	2.75	1.1
737001	2.34	0.76
737002	2.16	1.1

提取法、热回流法、超声提取法等进行比较, 结果 3 者之间提取出的栀子苷含量没有显著性差异, 但由于索氏提取法和热回流法费时间较长, 不利于生产

过程的控制,因此选择了比较简便、且效率较高的超声提取法。

曾据资料选择流动相:水-乙腈-磷酸(86:14:0.01)^[11]、水-甲醇(75:25)(加入0.1M磷酸)^[21]、水-乙腈(85:15)^[3],结果分离效果不佳,并且由于酸度较低,流动相容易长霉,造成柱压升高,影响到准确测定栀子苷的含量,结果还是以正文中流动相为最佳。

[参考文献]

- [1] 赵淑杰. 栀子及不同炮制品中栀子甙的含量分析[J]. 中国中药杂志, 1994, 19(10): 601.
- [2] 王喜军. 高效液相色谱在中药研究中的应用[M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1994: 98.
- [3] 陈发奎. 常用中草药有效成分含量测定[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997: 525.