

• 质量标准 •

高效液相色谱法测定金胆片中龙胆苦苷的含量

葛卫红^{1*}, 郭建友², 蔡金娜³, 薛建国³, 刘月庆³

(1. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053; 2. 中国科学院心理研究所, 北京 100101;
3. 上海汇仁医药科技有限公司, 上海 201203)

[摘要] 目的: 建立用高效液相色谱法(HPLC)测定金胆片中龙胆苦苷的含量测定方法。方法: 采用 YMC ODS(4.6mm × 150mm, 5 μ m) 色谱柱, 流动相为乙腈-水(11: 89), 流速为 1.0mL·min⁻¹; 检测波长为 274nm。结果: 龙胆苦苷在 0.106~ 1.277 μ g 范围内有良好的线性关系, $r=0.9999$, 平均回收率为 98.73%, RSD 为 2.7%。结论: 本方法简便可行, 重复性好, 能有效地控制金胆片成品的质量。

[关键词] 高效液相色谱法; 龙胆苦苷; 金胆片

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)11-0010-03

Determination of Gentiopicroside in Jindan Tablets by HPLC

GE Wei-hong^{1*}, GUO Jian-you², CAI Jin-na³, XUE Jian-guo³, LIU Yue-qing³

(1. Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China;
2. Institute of Psychology CAS, Beijing 100101, China;

3. Shanghai Huiren Medicinal Science and Technology Co., LTD., Shanghai 201203, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a HPLC method for determination of gentiopicroside in Jindan tablets. **Methods:** The separation was performed on YMC ODS(150 × 6mm, 5 μ m) column with a mobile phase composed of acetonitrile-water(11: 89). The flow rate was 1.0mL·min⁻¹. The detecting wavelength was 274nm. **Results:** The Calibration curve of gentiopicroside was in the range of 0.11~ 1.28 μ g, $r=0.9999$. The average recovery was 98.7% and RSD was 2.7%. **Conclusion:** The method is simple, rapid and accurate, and can be used for quality control of Jindan tablets.

[Key words] HPLC; Gentiopicroside; Jindan Tablets

金胆片是由龙胆、金钱草、虎杖及猪胆膏 4 味中药组成, 收载于部颁标准(WS3-B-3072-98) 中药成方制剂第十六册标准。具有利胆消炎之功效, 用于急、慢性胆囊炎, 胆石症及胆道感染等。原标准中仅有 2 项薄层色谱(TLC) 鉴别, 无含量测定指标。龙胆为方中君药, 其主要有效成分为龙胆苦苷, 金胆片中龙胆苦苷的含量测定尚未见文献报道, 为此, 本文选用

龙胆苦苷作为金胆片的质量控制指标, 建立了 HPLC 测定金胆片中龙胆苦苷含量的方法。该方法简便准确、重复性好, 能有效地控制金胆片成品的质量。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 高效液相色谱仪 Waters Delta 600 型, Waters 2996 二极管阵列紫外检测器, Millennium³² 色谱工作站。

1.2 试剂 龙胆苦苷对照品(中国药品生物制品检定所提供, 批号: 0737-200111); 金胆片(江西汇仁药业有限公司生产); 乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯, 水为超纯水。

[收稿日期] 2006-06-02

[通讯作者] * 葛卫红, Tel: (0571) 86613603; E-mail: geweihong@sina.com

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: YMC ODS (4.6mm × 150mm, 5μm); 流动相: 乙腈-水 (11: 89); 检测波长: 274nm; 流速: 1.00mL · min⁻¹, 柱温: 30℃; 进样量 20μL。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取龙胆苦苷对照品适量, 用甲醇溶解后制成含龙胆苦苷 30μg · mL⁻¹ 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取本品 20 片, 除去糖衣后研细, 精密取粉末 0.4g, 置于 50mL 锥形瓶中, 精密加入 50% 乙醇 25mL, 称定重量, 超声 30min (功率 350w, 频率 33KHz), 放置至室温, 称重, 补足减失重量, 以 2000r/min 离心 15min, 取上清液经 0.45μm 的滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 阴性对照溶液的制备 按金胆片制备方法制备缺龙胆药材的金胆片阴性样品。按供试品溶液制备方法制备阴性对照溶液。

2.5 系统适用性试验 取阴性对照溶液、对照品溶液和供试品溶液按上述色谱条件下进样, 记录色谱图 (见图 1、图 2 和图 3)。理论板数按龙胆苦苷峰计均在 5 000 以上, 且供试品溶液中龙胆苦苷峰与相邻杂质峰的分度在 1.5 以上, 已达到基线分离, 阴性无干扰。

2.6 线性关系的考察 精密量取对照品溶液 (0.106 4mg · mL⁻¹) 0.5、1、2、4、6mL 分别置于 10mL 量瓶中, 以甲醇稀释至刻度, 浓度分别为 5.320、10.640、21.280、42.560、63.840μg · mL⁻¹ 的对照品溶液。分别吸取 20μL 注入高效液相色谱仪, 测定峰面积。以峰面积为纵坐标 Y, 以浓度为横坐标 X (μg · mL⁻¹) 绘制标准曲线, 回归方程为 $Y = 21254.7X + 2787.3$, $r = 0.9999$, 表明龙胆苦苷在 0.106~1.277μg 范围内呈良好的线性关系。

2.7 精密度试验 取对照品溶液和供试品溶液, 按上述色谱条件分别连续进样 6 次, RSD 分别为 2.6% 和 2.7%。

2.8 稳定性试验 取对照品溶液和供试品溶液, 按上述色谱条件分别在 0、2、4、8、16、20、24h 进样, 对照品和供试品的峰面积基本不变, RSD 分别为 1.2% 和 2.5%, 表明供试品溶液在 24h 内是稳定的。

2.9 重复性试验 精密称取同一批号的供试品 (批号: 20010312) 6 份, 按拟定的含量测定测定龙胆苦苷的含量, 其 RSD 为 0.6%, 表明本法重复性较好。

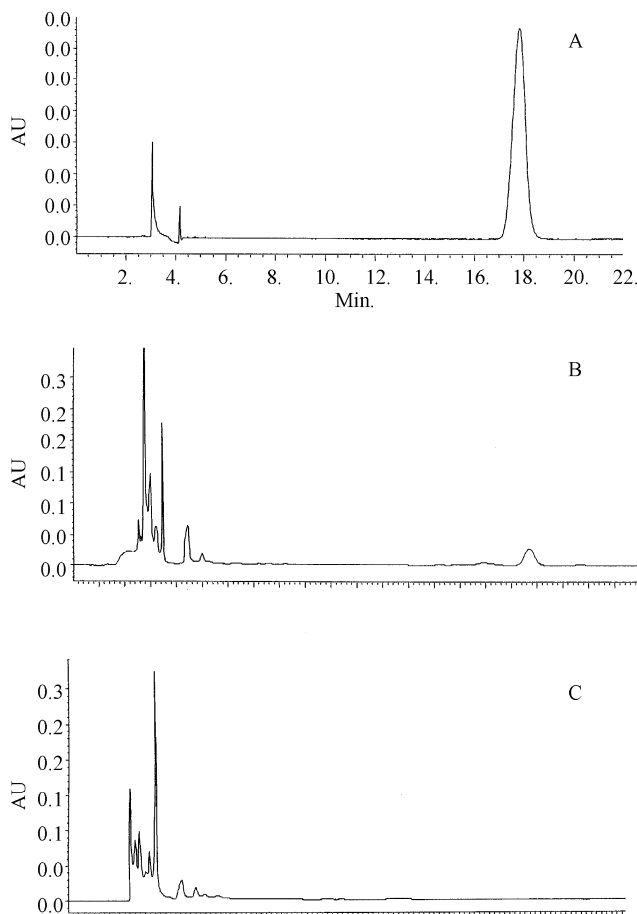


图 1 HPLC 色谱图

A. 龙胆苦苷对照品; B. 金胆片供试品; C. 龙胆阴性对照

2.10 加样回收率试验 取已知含量的金胆片 (批号: 20010312) 粉末 0.2g, 9 份精密称定, 分别加入高中低浓度的龙胆苦苷对照品溶液各 3 份, 按拟定的含量测定方法测定龙胆苦苷的含量, 结果平均回收率为 98.73%, RSD 为 2.7% ($n = 9$), 结果见表 1。

2.11 样品测定 取 10 个批号的样品和 3 个不同厂家的市售品按上述拟定的方法进行含量测定, 结果见表 2。

表 1 龙胆苦苷加样回收率试验

编号	取样量 (g)	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.202 0	0.355 5	0.212 8	0.573 6	102.5		
2	0.207 2	0.364 7	0.212 8	0.571 1	97.0		
3	0.207 8	0.365 7	0.212 8	0.572 1	97.0		
4	0.199 3	0.350 8	0.319 2	0.657 3	96.0		
5	0.194 5	0.342 3	0.319 2	0.650 2	96.5	98.73	2.7
6	0.208 6	0.367 1	0.319 2	0.695 1	102.7		
7	0.200 9	0.353 6	0.425 6	0.774 0	98.8		
8	0.201 3	0.354 3	0.425 6	0.764 7	96.4		
9	0.201 4	0.354 5	0.425 6	0.787 5	101.7		

表 2 10 批样品和 3 批市售品龙胆苦苷的含量测定结果

批号	含量(mg/片)	批号	含量(mg/片)
20010312	0.56	20010719	0.63
20010314	0.59	20010720	0.56
20010316	0.59	20010721	0.61
20010501	0.65	江苏 707 天然制药	0.12
20010502	0.64	江苏海慈药业	0.56
20010503	0.58	上海雷允上药业	0.30
20010718	0.63		

3 讨论

3.1 测定波长的选择 中国药典 2000 年版一部收载^[1]龙胆中含量测定项下龙胆苦苷的测定波长为 270nm, 本试验用二极管阵列检测器对龙胆苦苷对照品进行 UV 扫描, 结果龙胆苦苷的最大吸收波长在 274nm 处, 故测定波长为 274nm。

3.2 流动相的选择 参考了有关文献[2, 3] 分别对甲醇-水、乙腈-水、甲醇-乙腈-水、0.1% 醋酸水-乙腈系统的不同比例进行了比较, 结果以乙腈-水 (11: 89) 为流动相的分离度大, 峰形对称, 柱效高, 阴

性无干扰, 与相邻峰达基线分离。在实验中发现, 由于样品组份复杂, 一些保留较强的组份流出时间较长, 干扰后面的样品测定, 因此, 在龙胆苦苷出峰后采用了梯度洗脱程序, 用甲醇冲洗色谱柱, 以消除强保留组份在测定中的干扰。

3.3 样品前处理的考察 对样品的提取溶剂(甲醇 50% 甲醇、50% 乙醇)、提取方式(冷浸 12h、超声)、超声提取时间(15 30 60 90min)进行了考察, 最后确定用 50% 乙醇作提取溶剂, 超声 30min, 可使龙胆苦苷提取完全, 且峰形好, 无杂质干扰。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2000. 72.
- [2] 钱广生, 刘三康, 陈聪, 等. HPLC 法测定泻肝安神胶囊中龙胆苦苷的含量[J]. 华西药学杂志, 1999, 14(3): 180.
- [3] 李忠琼, 张雯洁, 马昕, 等. HPLC 测定龙金通淋胶囊中龙胆苦苷的含量[J]. 中成药, 2004, 26(6): 附 2.