

· 实验研究 ·

五淋散胶囊中栀子苷和芍药苷的 HPLC 含量测定

蓝鸣生¹, 陈路¹, 覃成芳², 马小军¹

(1 广西药用植物园, 南宁 530023; 2 广西中医学院, 南宁 530001)

[摘要] 目的: 建立五淋散胶囊中栀子苷和芍药苷的 HPLC 含量测定方法。方法: 采用 Diamonsil C₁₈ 色谱柱 (250mm × 4.6mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水 (20: 80), 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长为 235 nm, 柱温为 30 °C; 进样量为 20 μL。结果: 栀子苷进样量在 0.162~1.296 μg 范围内线性关系良好 ($r=0.9999$), 平均回收率为 101.30%, RSD 为 0.54% ($n=6$); 芍药苷在 0.160~1.280 μg 范围内线性关系良好 ($r=0.9999$), 平均回收率为 99.75%, RSD 为 1.04% ($n=6$)。结论: 本方法简便、准确、快速、灵敏度高、重现性好, 可作为五淋散胶囊中栀子苷和芍药苷的定量控制质量标准。

[关键词] 五淋散胶囊; 栀子苷; 芍药苷; 高效液相色谱法

[中图分类号] R927.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1003-3734(2010)14-1281-04

Quantitative determination of geniposide and paeoniflorin in Wulinsan capsule by HPLC

LAN Ming-sheng¹, CHEN Lu¹, QIN Cheng-fang², MA Xiao-jun¹

(1 Guangxi Medicinal Plant Garden, Nanning 530023, China; 2 Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China)

[Abstract] **Objective** To establish a HPLC method for the determination of geniposide and paeoniflorin in Wulinsan capsule. **Methods** The separation was performed on a Diamonsil C₁₈ chromatographic column (250mm × 4.6mm, 5 μm) with the mobile phase of methyl alcohol-water (20: 80) at the flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. UV detection wavelength was at 235 nm. Column temperature was at 30 °C. **Results** The geniposide showed a good linearity in the range of 0.162~1.296 μg ($r=0.9999$). The average recovery was 101.30%, and RSD was 0.54% ($n=6$). The paeoniflorin showed a good linearity in the range of 0.160~1.280 μg ($r=0.9999$). The average recovery was 99.75%, and RSD was 1.04% ($n=6$). **Conclusion** This method is simple, accurate, sensitive and reproducible; then it can be used for controlling the quantitative of geniposide and paeoniflorin in Wulinsan capsule.

[Key words] Wulinsan capsule; geniposide; paeoniflorin; HPLC

五淋散出自宋代《太平惠民和剂局方》, 由赤茯苓、当归、甘草、赤芍、山栀子五味中药材组成, 已有 800 年以上的应用历史。有清热凉血, 利水通淋之功效。在治疗淋证、尿路感染、尿路结石等疾病方面有非常显著的疗效且毒副作用小^[1-5]。为此, 多次被收录在中医院校的方剂教材中^[6], 为时下中医治疗热淋的主要方剂之一。但由于种种原因, 目前仍然没有通过国家食品药品监督管理局批准的五淋散

制剂产品上市。因此, 本研究开展了五淋散制剂产品——五淋散胶囊的研制工作。由于栀子、赤芍为五淋散的君药, 而两药材的主要有效成分分别为栀子苷和芍药苷。所以, 为了控制五淋散胶囊的质量, 作者对胶囊内容物中的栀子苷和芍药苷的 HPLC 测定方法开展了研究。

仪器与试剂

岛津 LC-10A 高效液相色谱仪 (SPD-10AV 紫外检测器, 威玛龙色谱工作站, 日本岛津公司); GR-202 型 1/10 万电子天平 (A&D Company, Limited Tokyo, 日本); W FZUV-2102 型分光光度计 (上

[基金项目] 广西南宁市科技攻关项目 (2008-2095C)

[作者简介] 蓝鸣生, 男, 副主任药师, 主要从事中药新产品研发工作。联系电话: 13977104998 E-mail: lmmingsheng@126.com

海优尼柯仪器有限公司)。

芍药苷(批号: 110736-200422)、栀子苷(批号: 110749-200613)均由中国药品生物制品检定所提供。供试样品五淋散胶囊内容物: 自制。所用药材分别采购自南宁、玉林; 安徽亳州; 广东清远。阴性样品: 自制。所用药材采购自南宁。甲醇为色谱纯, 水为纯化水, 其他试剂为分析纯。

方法与结果

1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(20: 80); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 235 nm; 柱温: 30 °C, 进样量: 20 μL; 理论塔板数分别以栀子苷和芍药苷峰计均 ≥ 1500。

2 测定波长的选择

分别取栀子苷和芍药苷对照品溶液, 在 200~600 nm 处进行吸光度扫描, 结果栀子苷和芍药苷在 235 nm 处都有平滑的最大吸收峰, 参考相关文献[8-10], 确定紫外检测波长为 235 nm。

3 对照品溶液的配制

精密称取栀子苷对照品 8.1 mg 芍药苷对照品 8.0 mg 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得对照品储备液(栀子苷浓度 81.0 μg·mL⁻¹, 芍药苷浓度 80.0 μg·mL⁻¹)。

精密量取储备液 3 mL 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 得对照品溶液(栀子苷 24.3 μg·mL⁻¹, 芍药苷 24.0 μg·mL⁻¹)。

4 供试品溶液的配制

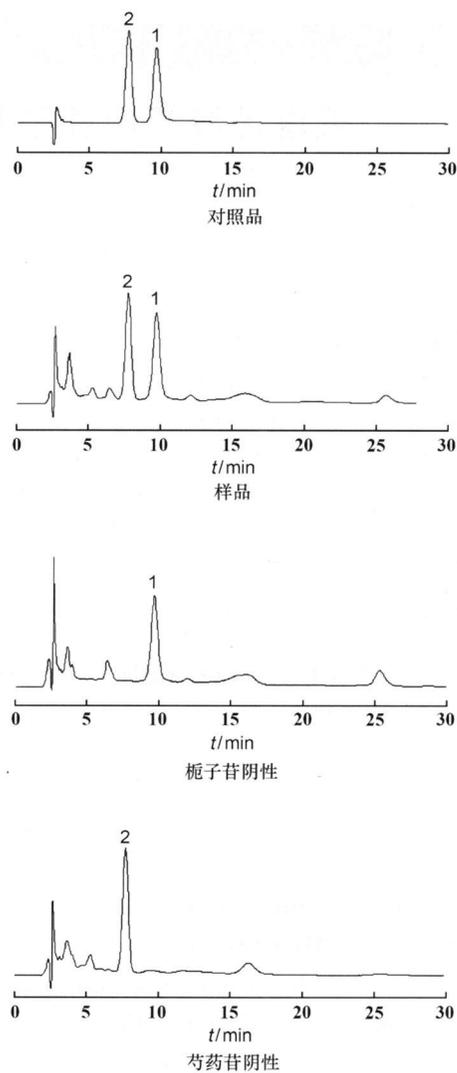
取五淋散胶囊内容物(批号: N080601; 药材来源于南宁生源中药饮片有限公司, “8”, “10”, “11”项均相同)约 0.01 g 精密称重后置 25 mL 量瓶中, 加甲醇 20 mL 溶解, 超声(250 W, 50 Hz)处理 30 min, 放冷, 加甲醇稀释到刻度, 摇匀、滤纸过滤后微孔滤膜滤过即得。

5 药材阴性溶液的配制

取栀子药材阴性浸膏和赤芍药材阴浸膏性浸膏, 按“供试品样液的配制”项制成阴性样品液。

6 空白实验

按上述色谱条件, 分别取上述 4 种溶液注入液相色谱仪中, 依法测定, 记录色谱图, 结果见图 1。由图 1 可知, 处方中其他药味对栀子苷色谱峰无干扰; 处方中其他药味对芍药苷色谱峰无干扰。



1-芍药苷, 2-栀子苷

图 1 五淋散胶囊内容物(N080601)HPLC图

7 标准曲线的建立

分别精密量取“3”项配制的对照储备溶液各 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释到刻度, 摇匀过滤后, 分别用微量注射器进样 20 μL, 依法测定。以峰面积(Y)对进样量(X, μg)进行回归, 得栀子苷标准曲线方程为: $Y = 24.802X + 6.981$ ($r = 0.9999$), 芍药苷标准曲线方程为: $Y = 24.223X - 10.693$ ($r = 0.9999$)。结果表明: 栀子苷进样量在 0.162~1.296 μg 范围时, 进样量与峰面积之间有良好的线性关系。芍药苷进样量在 0.160~1.280 μg 范围时, 进样量与峰面积之间有良好的线性关系。

8 精密度试验

取五淋散胶囊内容物 0.0102 g 按“4”项下方

法制备得供试品溶液,连续测定 6 次,每次取样液 20 μL , HPLC 测定结果表明: 栀子苷的峰面积 RSD 为 0.46%, 芍药苷的峰面积 RSD 为 0.83%, 测定精密度良好。

9 稳定性试验

取“8”项配制的供试品溶液分别于 0、2、4、6、8 和 12 h 进样 20 μL , 依法测定, 计算栀子苷和芍药苷峰面积的相对平均偏差, 结果: 栀子苷的峰面积 RSD 为 0.48%; 芍药苷的峰面积 RSD 为 0.84%。表明供试品溶液在 12 h 内稳定性较好。

10 重复性考察

取五淋散胶囊内容物 6 份, 约 0.01 g 精密称重后分别按“4”项下方法制备得供试品溶液。另从对照储备液中精密量取 4 mL 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀

释至刻度, 摇匀, 得对照品溶液 (栀子苷 12.96 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 芍药苷 12.80 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)。依法测定, 计算栀子苷和芍药苷峰面积相对平均偏差和平均含量, 结果: 栀子苷平均含量为 31.17 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 峰面积 RSD 为 0.58%; 芍药苷平均含量为 34.49 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 峰面积 RSD 为 0.96%。表明本方法重复性试验结果良好。

11 加样回收率试验

取五淋散胶囊内容物 (栀子苷含量 31.17 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$; 芍药苷含量 34.49 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) 6 份, 每份约 0.01 g 精密称重后分别置 25 mL 量瓶中, 加入 4 mL 对照品储备液, 加甲醇近刻度, 超声 (250 W, 50 Hz) 30 min, 放冷, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤纸过后微孔滤膜过滤, 得加样回收液, 取样 20 μL 依法测定, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 栀子苷和芍药苷的加样回收率结果

测定成分	取样量 /g	样品中含量 /mg	加入量 /mg	测定量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
栀子苷	0.0108	0.3366	0.3240	0.6666	101.85	101.30	0.54
	0.0109	0.3398	0.3240	0.6696	101.79		
	0.0110	0.3429	0.3240	0.6696	100.83		
	0.0110	0.3429	0.3240	0.6690	100.65		
	0.0109	0.3400	0.3240	0.6685	101.39		
	0.0107	0.3335	0.3240	0.6655	102.47		
芍药苷	0.0108	0.3727	0.3200	0.6961	101.06	99.75	1.04
	0.0109	0.3761	0.3200	0.6950	99.66		
	0.0110	0.3800	0.3200	0.6981	99.41		
	0.0110	0.3800	0.3200	0.6945	98.28		
	0.0109	0.3761	0.3200	0.6972	100.34		
	0.0107	0.3692	0.3200	0.6954	101.94		

12 样品含量测定

取从不同产地药材生产的胶囊内容物 10 批, 每批约 0.01 g 精密称重后, 按“4”项下方法制备得供试品溶液, 另精密量取对照储备液 8 mL 置 25 mL 量

瓶中加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 微孔滤膜滤过, 得对照品溶液 (栀子苷 25.92 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 芍药苷 25.60 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), 依法测定, 五淋散胶囊内容物栀子苷和芍药苷的含量测定结果见表 2。

表 2 五淋散胶囊内容物栀子苷和芍药苷的含量测定结果

$n=10$

胶囊内容物样号	取样量 /g	栀子苷含量 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	芍药苷含量 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$
南宁 01	0.0098	31.70	32.96
南宁 02	0.0102	31.59	33.75
南宁 03	0.0097	31.48	33.30
玉林 01	0.0099	30.44	32.75
玉林 02	0.0099	30.83	32.47
玉林 03	0.0100	30.71	32.68
亳州 01	0.0096	31.18	32.94
亳州 02	0.0098	31.19	32.78
亳州 03	0.0099	31.13	32.93
清远 01	0.0098	31.02	32.55
平均值		31.13	32.91

(下转第 1288 页)

③ 抗真菌药使用针对性较强,可排除因适应症不符而滥用。

临床抗真菌药物选用逐渐趋向个别品种(如2008年 DDDs 排序伊曲康唑胶囊居首位,氟康唑和特比奈芬退到 9 和 10 位)。原因是:① 同类品种中酮康唑片因不良反应较大逐渐被临床淘汰。② 同类品种氟康唑限定日费用比伊曲康唑高。③ 不排除其他社会因素的影响及与商家广告和宣传有关,因此对单品种用量过高应加强管理。

2.3 限制使用(2线)抗感染药物在我院临床占主导地位 由表 7 可知,4 年间,我院限制使用(2线)抗感染药物的销售金额平均占抗感染药物销售金额的 79.92%,消耗的 DDDs 平均占总 DDDs 的 55.85%,并逐年上升。说明限制使用(2线)抗感染药物在我院临床占主导地位;我院抗感染药物选择起点高。

从以上分析可知,我院抗感染药物使用基本合理。这是因为:根据卫生部 2004 年版的《抗感染药物临床应用指导原则》及广西壮族自治区卫生厅《规范》要求,我院制定了《抗感染药物临床合理应

用实施细则》《处方点评制度》《抗感染药物分级管理制度》《波动超过 30% 抗感染药物及用量异常增长品种监控制度》。设计《问题处方联系卡》,对处方合理用药进行调剂前监控。每季度由专人对住院与门诊抗感染药物使用进行统计分析并通报反馈及定期进行合理用药知识培训等,均有效地促进了我院抗感染药物合理应用。但也应看到我院存在抗感染药物使用起点高、品种异常增长管理不力等问题,有待进一步加强监控管理。

[参 考 文 献]

- [1] 江启蓉,冯碧敏.泸州医学院附属医院 2004-2007 年口服抗糖尿病药物利用分析[J].药学服务与研究,2008,12(8):432-434
- [2] 张桂芬.我院 2002~2004 年抗感染药应用分析[J].中国医院药学杂志,2006,26(4):491
- [3] 何晓英,任俊,曹慧,等.我院 2003~2006 年皮肤病药应用分析[J].中国药房,2008,19(23):1769-1772

编辑:杨青 接受日期:2010-02-20

(上接第 1283 页)

讨 论

通过文献研究,五淋散中山栀子、赤芍为君药。两药材目前已知主要有效成分分别为栀子苷和芍药苷,其含量多少对本方剂的药效有较大影响^[7-8]。本实验曾采用《中华人民共和国药典》对栀子药材中栀子苷的含量测定体系:乙腈-水,对赤芍药材中芍药苷的含量测定体系:甲醇-磷酸二氢钾水溶液,对五淋散胶囊内容物中的栀子苷和芍药苷 HPLC 含量测定方法进行了研究^[9],但结果不理想。最后确定本实验采用的体系为最佳 HPLC 条件,通过 10 个不同批次样品的含量测定,初步摸索出五淋散胶囊内容物中栀子苷和芍药苷的 HPLC 定量测定方法,通过进一步的检测实践积累后,可作为五淋散胶囊含量测定的质量控制标准。

[参 考 文 献]

- [1] 刘景源(点校).太平惠民和剂局方[M].北京:人民卫生出版

社,1989:217-218.

- [2] 王瑞星.五淋散临床运用验案举隅[J].黑龙江中医药,1990(3):29-30.
- [3] 张侠武.加味五淋散治疗淋病性尿道炎[J].吉林中医药,2006,26(9):28
- [4] 黄国林.五淋散加味治疗急性下尿路感染 30 例临床观察[J].中医药导报,2006,12(8):51-52
- [5] 芮其根.五淋散加减治疗泌尿系结石 168 例[J].中医药临床杂志,2006,18(3):251
- [6] 许济群,王绵之.方剂学(供高等医药院校中医、中药、针灸专业用)[M].上海:上海科学技术出版社,2003:183-184
- [7] 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):161-162
- [8] 李忠林,任淑娟,张鹏,等.HPLC 法测定愈银片中芍药苷的含量[J].中国药师,2009,12(5):618-619
- [9] 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,2005:109,173

编辑:周卓 接受日期:2010-04-20