

HPLC 测定解毒退黄合剂中栀子苷的含量

李润文

(沈阳市第六人民医院, 辽宁沈阳 110006)

[摘要] 目的: 建立解毒退黄合剂中栀子苷的含量测定方法。方法: 采用 HPLC 法, 色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水 (12:88), 流速为 1.0 ml/min, 检测波长为 238 nm。结果: 栀子苷在 0.142 4~1.424 0 μg 范围内线性关系良好 ($r=0.999\ 8$), 平均回收率为 100.6%, RSD 为 0.91%。结论: 本方法灵敏、准确、重复性好, 为解毒退黄合剂的质量控制提供了依据。

[关键词] HPLC; 解毒退黄合剂; 栀子苷; 含量测定

[中图分类号] R927.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1673-7210(2009)06(a)-069-02

Content determination of geniposide in Jiedu Tuihuang Heji by HPLC

LI Runwen

(The Sixth People's Hospital of Shenyang, Shenyang 110006, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for the determination of geniposide in Jiedu Tuihuang Heji. **Methods:** HPLC was used, the column was Diamonsil C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm) with the mobile phase consisted of acetonitrile-water (12:88), the flow rate was 1.0 ml/min and the detective wavelength was set at 238 nm. **Results:** There was good linearity in range of 0.142 4~1.424 0 μg ($r=0.999\ 8$), the average recovery was 100.6% with a RSD of 0.91%. **Conclusion:** This method is sensitive, accurate, reproducible and provides a basis for the quality control of Jiedu Tuihuang Heji.

[Key words] HPLC; Jiedu Tuihuang Heji; Geniposide; Content determination

解毒退黄合剂由栀子、茵陈、虎杖等六味中药组成, 具有清热解毒、利胆退黄的功效, 临床上用于治疗各型黄疸型肝炎。栀子为方中君药, 其有效成分栀子苷有利胆保肝的作用, 经药理研究证明, 栀子苷能促进胆汁分泌, 降低血中胆红素并促进其迅速排泄, 阻断并逆转肝纤维化, 保护和恢复肝细胞功能。为确保制剂的质量和疗效, 本文建立了栀子苷的 HPLC 测定方法, 可作为该制剂的质量控制指标。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

LC-10A 高效液相色谱仪 (日本岛津公司); TDL-40B 离心机 (上海安亭科学仪器厂); ES-120J 电子分析天平 (沈阳龙腾电子称量仪器有限公司)。

1.2 试剂

解毒退黄合剂 (沈阳市第六人民医院制剂室, 批号为 060127、060302、060414、060510、060620、060725、060824、060914、061012、061208); 栀子苷对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号为 110749-200512); 水为重蒸馏水, 乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水 (12:88), 流速为 1.0 ml/min, 检测波长为 238 nm, 柱温为 40℃。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取栀子苷对照品 17.8 mg, 置 25 ml 容量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 1 ml, 置 10 ml 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得每毫升含栀子苷 71.2 μg 的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密量取本品 5 ml, 置 50 ml 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 离心 10 min, 取上清液, 经微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 即得供试品溶液。

2.2.3 阴性对照品溶液的制备 按处方及工艺制备不含栀子的阴性对照品, 再按“2.2.2”项下方法制备阴性对照品溶液。

2.3 系统适用性试验及专属性考察

分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液与阴性对照品溶液各 10 μl, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 见图 1。由图 1 可见, 栀子苷峰与其他峰基线分离, 分离度大于 1.5, 理论板数按栀子苷峰计算不低于 3 000。对照品溶液与供试品溶液主成分峰的保留时间一致, 阴性对照品溶液在栀子苷峰相应的位置上无色谱峰, 表明其他成分对测定无干扰。

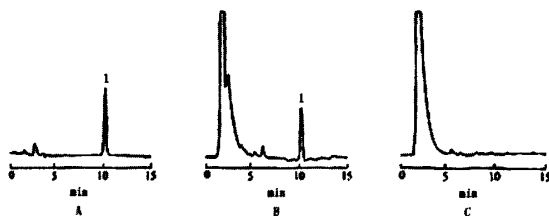


图 1 解毒退黄合剂 HPLC 图

(A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照品; 1. 栀子苷)

Fig.1 HPLC chromatograms of Jiedu Tuihuang Heji

(A. Reference substance; B. Sample; C. Negative control substance; 1. Geniposide)

2.4 线性关系考察

分别精密吸取对照品溶液 2、5、10、15、20 μl 进样, 在上述色谱条件下测定, 以峰面积值为纵坐标, 栀子苷进样量为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程 $Y=39\ 470.21X+49\ 097$,

$r=0.9998$ 。结果表明, 栀子苷在 $0.1424 \sim 1.4240 \mu\text{g}$ 范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验

精密吸取对照品溶液 $10 \mu\text{l}$, 连续进样 5 次, 测定栀子苷峰面积, 得 RSD 为 0.41% , 表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

精密吸取同一批号供试品溶液 (060302) $10 \mu\text{l}$, 分别于 $0.2, 4, 6, 8 \text{ h}$ 进样测定, 栀子苷峰面积无明显变化, RSD 为 0.68% 。表明供试品溶液在 8 h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验

取同一批号供试品 (060510) 6 份, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 $10 \mu\text{l}$ 进样, 测定栀子苷峰面积并计算含量, 结果平均含量为 0.654 mg/ml , RSD 为 0.72% 。表明本方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

精密量取已知含量的同一批号供试品 (060510) 2.5 ml 6 份, 分别精密加入栀子苷对照品溶液 (0.647 mg/ml) 2.5 ml , 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 $10 \mu\text{l}$ 进样, 测定含量, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 加样回收测定结果

Tab.1 Results of the sample recovery test

供试品中含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1.652 5	1.617 5	3.265 1	99.7		
1.635 0	1.617 5	3.279 8	101.7		
1.622 5	1.617 5	3.231 9	99.5	100.6	0.91
1.645 0	1.617 5	3.275 4	100.8		
1.630 0	1.617 5	3.271 8	101.5		
1.625 0	1.617 5	3.245 7	100.2		

2.9 含量测定

取 10 批供试品各 2 份, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 $10 \mu\text{l}$ 进样, 按外标法计算栀子苷的含量, 结果见表 2。

长期生产实践证明, 药品的含量服从正态分布, 故置信度 95% 的单侧置信下限为 $(\bar{x} - t_{0.05} \cdot s_x) = (0.66 - 1.833 \times 0.06) = 0.55$ 。

表 2 供试品含量测定结果

Tab.2 Results of the sample assay

序号	批号	栀子苷的含量 (mg/ml)			RSD (%)	平均含量 (mg/ml)	SE (mg/ml)
		1	2	平均值			
1	060127	0.633	0.619	0.626 0	1.58		
2	060302	0.585	0.591	0.588 0	0.72		
3	060414	0.692	0.678	0.685 0	1.45		
4	060510	0.658	0.652	0.655 0	0.65		
5	060620	0.705	0.694	0.699 5	1.11	0.66	0.06
6	060725	0.604	0.611	0.607 5	0.81		
7	060824	0.688	0.681	0.684 5	0.72		
8	060914	0.725	0.736	0.730 5	1.06		
9	061012	0.752	0.757	0.754 5	0.47		
10	061208	0.568	0.574	0.571 0	0.74		

由于药材来源、工艺设备及贮存条件均较稳定, 所以暂定本品每毫升含栀子以栀子苷计不得少于 0.55 mg 。

3 讨论

通过多次试验发现减少乙腈的用量, 采用本文流动相中乙腈与水的比例, 可使栀子苷峰与其他峰基线分离, 保留时间适中。经方法学考察, 证明本方法灵敏、准确、重复性好, 以栀子苷的含量为指标, 有效控制了解毒退黄合剂的质量。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 173.
- [2] 龙琳, 张昀, 黄顺菊. HPLC 测定舒肝宁注射液中栀子苷含量[J]. 中成药, 2003, 25(10): 852-853.
- [3] 寇翔, 宋少江. HPLC 法测定消瘰平亢颗粒中栀子苷含量[J]. 中成药, 2006, 15(9): 715-716.
- [4] 章曙丹, 徐强, 汤建成. HPLC 法测定新雪片中栀子苷含量[J]. 中成药, 2007, 18(2): 134-136.
- [5] 孙文武. HPLC 法测定桉柏合剂中栀子苷的含量[J]. 中国药房, 2007, 18(33): 2609-2610.
- [6] 拉喜那木吉拉, 胡春. HPLC 测定蒙药六味木香散中栀子苷含量[J]. 中成药, 2008, 30(1): 147-148.
- [7] 潘强, 陈野, 邹森. HPLC 法测定羚牛角二十五味丸中栀子苷含量[J]. 中国药事, 2008, 22(6): 491-492.
- [8] 周桂坤, 关金凤, 海金, 等. HPLC 法测定杜西-25 中栀子苷含量[J]. 中国药事, 2008, 22(7): 580-581.

(收稿日期: 2009-02-19)

· 医药资讯 ·

河南淅川建成 100 家标准化村卫生室

本刊讯(本刊记者 王伟 特约记者 张如冰)多年来, 河南省淅川县卫生局扎实开展标准化村卫生室建设工作, 目前, 已有 100 家标准化村卫生室(所)经县政府检查评估达标。

据悉, 2008 年年初, 淅川县卫生局下达“创建 100 家标准化村卫生室”的目标任务, 并成立了标准化村卫生室创建领导小组, 由肖国明局长亲自抓落实。在县域大部分地区属偏远山区, 自然条件和经济条件相对落后, 南水北调将导致相当一部分行政村迁移等一系列不利因素的制约下, 淅川县卫生局克服重重困难, 坚持因地制宜和分类指导的原则, 逐级签订目标责任书, 并以“新农合”定点医疗机构的统一设置为导向, 开发村医潜力, 动员社会力量, 总体进展顺利。日前, 淅川县政府组织各乡镇主管卫生工作的领导、卫生院院长和卫生局相关人员 50 余人, 在主管县长韩内森的领导下, 对全县各乡镇的部分村卫生室建设情况进行观摩, 并对下一步的建设工作提出了具体要求。