

## 高效液相色谱法测定清火栀麦片中栀子苷的含量

广西中医学院(南宁 530001) 刘华钢\* 陈燕军 毛 健\*\*

**摘要** 利用反相高效液相色谱法,采用外标法测定了清火栀麦片中栀子苷的含量。对清火栀麦片中栀子苷的提取方法、测定条件进行了选择,实验结果显示用乙醚先洗脱杂质,后用50%甲醇超声波振荡法提取较好。测定了5个厂家的清火栀麦片样品,栀子苷含量分别为每片0.356、0.467、0.957、2.975、5.387 mg,加样回收率为97.4%,RSD为1.61%。

**关键词** 清火栀麦片 栀子苷 高效液相色谱法 含量测定

清火栀麦片主要由穿心莲、麦冬、栀子等组成,具清火、解毒、凉血、消肿之功效,用于咽喉肿痛、急性扁桃腺炎、发热、头痛、牙痛、目赤、心火旺盛、睡眠不佳等<sup>[1]</sup>。我们用反相高效液相色谱法测定了其中栀子苷的含量,分离效果好、简单快速、准确,为控制清火栀麦片内在质量提供了实验数据。

### 1 仪器与药品

1.1 LC-84 高效液相色谱仪(日本岛津),SPD-6AV 可见-紫外检测器,CR4A 数据处理机,20  $\mu$ L 定量进样管,Shim-pack CLC-ODS 柱(6.0 mm $\times$ 150 mm),UV-160A 紫外可见分光光度计(日本岛津)。

1.2 对照品:栀子苷,由中国药品生物制品检定所提供;样品:清火栀麦片均为市售,分别为广西 A 药厂 960706、B 药厂 960702、C 药厂 960314 与 960110、D 药厂 970105、E 药厂 970109。

流动相用甲醇为优级纯,提取、溶解用为分析纯;流动相用水为去离子重蒸水。

### 2 方法与结果

2.1 色谱条件:流动相:甲醇-水(30:70),柱温:室温,流速:1 mL/min,测定波长:240

nm,记录仪纸速:2.5 mm/min。

2.2 标准曲线的绘制:精密称取 10 mg 栀子苷,以 50%甲醇溶解并定容到 25 mL。从中吸取 0.25、0.5、1.0、2.5、5.0 mL 分别稀释至 10 mL,于 15 000 r/min 下离心 15 min。吸取上清液,进样 20  $\mu$ L,以进样量  $X$  为横坐标,峰面积  $Y$  为纵坐标作图,得回归方程为  $Y = 73\,482.57X + 2\,710.20$ ,  $r = 0.9994$ 。进样量在 0.2~4  $\mu$ g 范围内线性关系良好。

2.3 样品测定:称取去糖衣的清火栀麦片 10 片,其平均素片重为 0.25 g。称取栀麦片粉末约 0.5 g,精密称定,用乙醚于索氏提取器中提取至乙醚无色。弃去乙醚液,残渣挥干乙醚,再用 50%甲醇超声波振荡提取 2 次,每次 20 mL,振荡 15 min,合并提取液并定容到 50 mL。取适量,于 15 000 r/min 下离心 15 min。吸取上清液进样分析,结果见表 1。

2.4 重现性和精密度试验:依样品测定项步骤对同一批号(C 药厂 960314)样品重复分析 5 次,测得每片含量(mg)分别为:0.980、0.955、0.983、0.935、0.950, RSD 为 2.13%,表明重现性较好。

取标准品适量用 50%甲醇溶解,于

\* Address: Liu Huagang, Guangxi College of Traditional Chinese Medicine, Nanning

刘华钢 女,1982年毕业于广西中医学院药理学系,获医学学士学位。1984年9月~1986年元月在中国药科大学进修,1987年9月~1988年7月在广西大学电算英语培训班学习,1996年3月~1997年6月在广西中医学院中医药硕士研究生班学习,1997年12月晋升为中药药剂学教授,现任广西医科大学副校长。研究方向为中药、民族药的新制剂、新剂型开发及质量控制。主要科研成果有开发转让保健食品3次,药械用品1项,发表“银黄片的体外溶出速率研究”及“HPLC法测定芒果止咳片中芒果苷的含量”等论文40余篇,主编或全编“中成药学”等教材及教学参考书7本。

\*\*本校九三级实习生

15 000 r/min 下离心 15 min, 进样 20  $\mu$ L, 重复进样 5 次, 测得峰面积分别为 31 338、31 152、30 969、31 084、32 186, *RSD* 为 1.56%。说明仪器精密度良好。

**表 1 清火栀麦片中栀子苷的含量测定结果( $n=3$ )**

厂家	批号	每片含量			$\bar{x}$ (mg)	<i>RSD</i> (%)
		(mg)	(mg)	(mg)		
A	960706	0.345	0.370	0.353	0.356	3.59
B	960702	0.463	0.453	0.485	0.467	3.51
C	960314	0.935	0.980	0.955	0.957	2.36
D	970105	2.948	2.938	3.038	2.975	1.85
E	970109	5.635	5.288	5.238	5.387	4.01

2.5 加样回收率实验: 称取去糖衣的清火栀麦片(C 药厂 960110) 粉末 5 份, 每份约 0.25 g, 精密称定, 同时加入 1.0 mg 栀子苷标准品, 依样品测定项步骤进样分析。其结果平均回收率为 97.4%, *RSD*=1.61%。

2.6 稳定性实验: 取去糖衣的清火栀麦片粉末 0.5 g, 依样品测定项步骤制备样品, 每隔 1 h 进样分析, 共 5 次。测得其峰面积分别为 21 610、22 464、22 356、22 610、22 875, 平均为 22 383, *RSD* 为 2.12%。表明样品 4 h 内稳定。

### 3 讨论

3.1 检测波长的选择: 紫外可见分光光度计扫描栀子苷的最大吸收波长为 239.2 nm, 同时也参考了一些文献<sup>[2~7]</sup>, 确定本方法的检测波长为 240 nm。

3.2 提取方法的优选: 直接用清火栀麦片水提液进样分析, 结果显示栀子苷峰无法与杂质峰分离。我们先将样品用乙醚索氏提取除去大部分脂溶性的杂质, 而栀子苷在乙醚中溶解度极小, 提高了分离效果, 同时也在一定程度上保护了色谱柱。

用蒸馏水、乙醇和 50% 甲醇分别提取, 结果发现 50% 甲醇提取效果较好, 分析纯乙醇提取液栀子苷分离效果不好, 水提取含量较低。

乙醚去杂质后, 分别采用索氏提取、加热回流、超声波振荡法(皆用 50% 甲醇) 提取, 结果显示后者效果较好, 提取较完全。

分别采用超声波振荡提取方式, 50% 甲醇振荡 2 次(20、20 mL; 15 分/次)、振荡 3 次(20、10、10 mL; 15 分/次) 及振荡 4 次(10、10、10、10 mL; 15 分/次), 结果显示无明显区别, 故选择 2 次提取的方式。

3.3 本文流动相水与甲醇的比例与某些有关栀子苷的文献<sup>[2~7]</sup> 记载有些差异。甲醇比例相对高些, 方可在本文分析条件下取得较短的保留时间, 同时又可与杂质峰分开。

3.4 经测定, 理论塔板数按栀子苷峰计算为 2 634, 说明柱效良好。

3.5 实验结果表明, 不同厂家不同批号清火栀麦片中栀子苷的含量相差甚远。分析其原因可能因原料来源、加工、原料贮藏、厂家生产质量把关程度不同, 影响其中含量。因此, 建议制定原料药栀子中栀子苷的含量标准, 以利于生产投料参考; 规范清火栀麦片生产工艺, 从而更好地控制清火栀麦片的质量。

#### 参 考 文 献

- 1 广西药品标准. 1984:249
- 2 赵淑杰. 中国中药杂志, 1994; 19(10):601
- 3 赵淑杰. 中草药, 1995; 26(4):182
- 4 赵淑杰. 中药材, 1994; 17(12):24
- 5 韩 晋. 中国药学杂志, 1995; 30(3):166
- 6 刘 燕. 中国中药杂志, 1993; 18(5):298
- 7 刘华钢. 中成药, 1995; 17(5):3

(1998-05-06 收稿)

### Determination of geniposide in Qinghuo Zhimai Tablets by HPLC-Densitometry

Liu Huagang, Chen Yanjun and Mao Jian (Guangxi College of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530001)

**Abstract** Content of geniposide in Qinghuo Zhimai tablet(QZM) was determined by RP-HPLC with the use of external standard. Conditions for the extraction and determination of geniposide from QZM were optimized. Results showed that the samples should be washed with ethyl ether to remove fatty impurities and

then extracted with 50% methanol with the aid of ultrasonic wave. Samples from five different manufacturers were determined. Their geniposide contents varied from 0.356 mg/Tab, 0.467 mg/Tab, 0.957 mg/Tab, 2.975 mg/Tab and 5.387 mg/Tab. The average recovery was 97.4% and  $RSD=1.61\%$ .

**Key words** Qinghuo Zhimai tablets (QZM) geniposide RP-HPLC

## 用均匀设计法优选侧柏叶中槲皮苷的提取纯化工艺

中国药科大学(南京 210009) 曾 詮\* 易登录 吴洪元 黄炳生\*\*

**摘 要** 用均匀设计法优选了侧柏叶中槲皮苷的提取纯化工艺。结果表明:乙醇浓度、用量、浸泡时间以及水的用量、萃取溶剂体积对槲皮苷得率都有直接的影响;而氯化钠及 pH 值对得率影响不大。

**关键词** 均匀设计法 侧柏叶 槲皮苷 双波长薄层扫描法

侧柏叶性味苦、涩,微寒,有凉血止血作用。据报道侧柏叶中的止血活性成分是槲皮苷<sup>[1]</sup>。我们用均匀设计法研究槲皮苷提取纯化工艺<sup>[2,3]</sup>。采用双波长薄层扫描法来测定侧柏叶中各设计方案中槲皮苷的含量。该研究将使均匀设计法在对优化提取有效成分得率上提供了一些参考数据。

### 1 实验部分

1.1 药材:侧柏叶 1997 年 4 月及 1997 年 5 月分别采于中国药科大学校园和南京市中山陵,经鉴定为侧柏 *Platycladus orientalis* (L.) Franco 的干燥枝梢及叶。

槲皮苷 quercitrin 对照品:华西医科大学提供。

其余试剂均为分析纯。

1.2 仪器:岛津 CS-9000 型双波长薄层扫描仪,十万分之一分析天平(R200D, Sartorius research),UV-Ⅱ型三用紫外分析仪(北京凯星电讯设备研究所)。

### 2 实验方法

#### 2.1 优选提取纯化工艺

2.1.1 提取方法的选择:比较了水提与醇提取侧柏叶中的槲皮苷的含量,以醇提含量高。又在生药量、醇的浓度、醇的体积及提取后的

纯化步骤完全相同情况下,比较了热回流提取法、索氏提取法、渗漉法、室温浸渍法对有效成分的影响。实验结果以渗漉法提取槲皮苷含量较高(表 1),且杂质少,确定以渗漉法作为均匀设计的提取方法。

表 1 不同提取方法对侧柏叶中槲皮苷含量的影响( $n=3$ )

提取方法	热回流	索氏提取	渗漉	室温浸渍	水提取
槲皮苷(%)	0.1359	0.1287	0.1480	0.1152	0.07583

2.1.2 优选提取纯化工艺:经试验选用渗漉法作为均匀设计提取方法,以槲皮苷为检测指标,设计侧柏叶的提取纯化工艺。首先以乙醇浓度、用量、浸泡时间考察侧柏叶提取工艺,根据所得的最优条件,选择加水量、加氯化钠量、调 pH 值及萃取溶剂体积 4 个因素再次运用均匀设计探讨这些因素对纯化工艺的影响,提取纯化的因素水平表见表 2。 $U_5$ (5<sup>4</sup>)试验及结果见表 3。

#### 2.2 侧柏叶中槲皮苷的测定

2.2.1 标准曲线的绘制:精密称取槲皮苷 1.86 mg,配成 1.86 mg/mL 的醇液,精密吸取 1.0、2.0、4.0、5.0、6.0、8.0、10.0  $\mu\text{L}$  点于薄层板上,以乙酸乙酯-丙酮-甲酸-水(80:15:5:5)为展开剂,展开,晾干,紫外灯 254

\* Address: Zeng Quan, China Pharmaceutical University, Nanjing

\*\* 本校 97 届毕业生