

$10^6 X - 2\ 618.384$ ($r = 0.999\ 9$)。以上结果表明:原阿片碱在 $0.015\sim 0.48\ \text{mg}/\text{mL}$ 呈良好线性关系,延胡索乙素在 $0.02\sim 0.64\ \text{mg}/\text{mL}$ 呈良好线性关系。

2.6 精密度试验:将原阿片碱 ($0.12\ \text{mg}/\text{mL}$) 和延胡索乙素 ($0.16\ \text{mg}/\text{mL}$) 对照品溶液连续进样 5 次,其峰面积 RSD 分别为 1.66% 和 2.28%。

2.7 重现性试验:配制同一批号供试品溶液 5 份,各吸取 $5\ \mu\text{L}$ 进样分析,求得含量,原阿片碱和延胡索乙素含量的 RSD 分别为 0.65% 和 1.03%。

2.8 稳定性试验:取供试品溶液分别于配制后 0, 1, 3, 5, 21, 23, 25 h 依法测定,原阿片碱和延胡索乙素的峰面积 RSD 分别为 0.66% 和 0.98%。

2.9 回收率测定:采用加样回收法。精密称取已知含量苦地丁提取物 2.9 mg,分别精密加入原阿片碱对照品溶液 ($0.532\ \text{mg}/\text{mL}$) 3.2 mL 和延胡索乙素对照品溶液 ($0.425\ \text{mg}/\text{mL}$) 2.0 mL,用 2.0% 醋酸加至 25 mL,按以上色谱条件测定,计算回收率。结果原阿片碱平均回收率为 99.2%, RSD= 1.63% ($n=5$);延胡索乙素平均回收率为 100.1%, RSD= 2.34% ($n=5$)。

2.10 样品分析:取苦地丁提取物约 12.5 mg,精密称定,置 25 mL 量瓶中,加 2% 醋酸使溶解,并稀释至刻度,摇匀,按以上色谱条件测定,结果见表 1 及图 1。

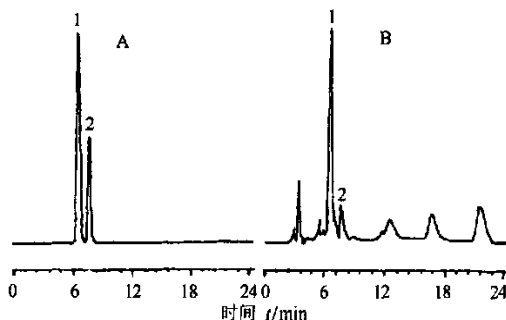
3 讨论

经不同品牌的 C_{18} 色谱柱测试,本法的水现性较好。本法曾用于不同产地苦地丁提取物的含量测定,色谱分离度及峰形均较好。

表 1 苦地丁提取物中原阿片碱和延胡索乙素含量测定结果 ($n=3$)

Table 1 Determination of protopine and tetrahydro-palmatine in *C. bungeana* extracts ($n=3$)

批号	原阿片碱含量 / ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	延胡索乙素含量 / ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)
010825	363.1	82.6
010910	359.2	90.2
010924	354.3	95.8



1-原阿片碱 2-延胡索乙素

1-protopine 2-tetrahydropalmatine

图 1 混合对照品 (A) 和苦地丁提取物 (B) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of mixed reference substances (A) and *C. bungeana* extract (B)

References

- [1] Zhou J M, Yu C J, Cao Y, *et al.* Study on effective constituents in *Corydalis shearerii* S. Moore [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1981, 12(3): 3-4.
- [2] Deng M, Song X Y, Wang J F. Progress in studies on pharmacological effect of protopine [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(3): 275-277.
- [3] He L Y, Zhang Y B. Separation by TLC and determination by optical density of six kind isoquinoline alkoids in *Corydalis bungeana* Turcz. [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1985, 20(5): 377.

RP-HPLC测定蚁肝康颗粒中梔子苷的含量

戴向东*

(广西药品检验所,广西 南宁 530021)

蚁肝康颗粒由茵陈、黑蚂蚁、梔子等 13 味中药提取精制而成,具有清热利湿、疏肝理气、活血止痛之功能,用于保肝护肝并对各种慢性肝炎所致肝功能损害有效。方中臣药梔子具有清热利尿、凉血解毒作用,其主要成分为梔子苷。《中华人民共和国药典》2000 版一部收载有 HPLC 法测定梔子中梔

子苷含量的方法。为有效控制药品质量,本实验建立了 RP-HPLC 测定蚁肝康颗粒中梔子苷含量的方法。

1 仪器与试剂

Waters 600 型高效液相色谱仪, Waters 717 型自动进样器, Waters 2487 型紫外检测器, Waters

* 收稿日期: 2003-05-22

作者简介: 戴向东 (1968-), 广西恭城人, 主管药师, 从事化学分析及药品质量标准研究。Tel (0771) 2611940

996型二极管阵列检测器,Waters Millennium 色谱工作站,Sartorius BP211D电子天平。

乙腈为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。蚁肝康颗粒由桂林集琦制药集团有限公司提供。栀子苷对照品由中国药品生物制品检定所提供,含量测定用,批号 0749-200007

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Inertsil ODS-3 (4.6 mm×250 mm, 5μm); 流动相: 乙腈-水 (15∶85); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 238 nm; 进样量: 20μL

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取栀子苷对照品适量置量瓶中,加流动相溶解,制成 30μg/mL 的溶液

2.3 供试品溶液的制备: 取供试品约 5 g,精密称定,置 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,密塞,称定质量,超声处理 30 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀。滤过,弃去初滤液,精密量取续滤液 25 mL,置蒸发皿中,蒸干,残渣加水溶解,转移至 25 mL 量瓶中,并加水至刻度,摇匀。滤过,弃去初滤液,精密量取续滤液 10 mL,通过 D101 型大孔吸附树脂柱 (内径 1.5 cm,长 10 cm),用水 100 mL 洗脱,弃去水液,再用 50% 乙醇 60 mL 洗脱,弃去前 10 mL 初洗脱液,收集续洗脱液,蒸干。残渣用水饱和的正丁醇 30 mL 溶解并分次转移至分液漏斗中,用正丁醇饱和的氨试液提取 2 次,每次 3 mL,合并水液,再用水饱和的正丁醇振摇提取 5 次,每次 10 mL。合并前后 2 次的正丁醇提取液,蒸干。残渣加流动相转移至 25 mL 量瓶中,并加流动相至刻度,摇匀。用微孔滤膜 (0.45μm) 滤过,取续滤液,作为供试品溶液

2.4 阴性对照溶液的制备: 取缺栀子的其他各味中药按处方工艺制成阴性对照,按 2.3 项下方法制成阴性对照溶液。

2.5 测定方法: 分别精密吸取上述 3 种溶液各 20 μL,注入色谱仪,在上述色谱条件下测定,结果表明供试品有与栀子苷对照品相同保留时间的色谱峰,与其他组份分离良好; 栀子苷的保留时间为 9.42 min,阴性对照溶液在栀子苷出峰的时间没有任何杂质峰。色谱图见图 1

2.6 方法学考察

2.6.1 线性关系考察: 精密称取栀子苷对照品适量 (约 20 mg),置 100 mL 量瓶中,加流动相使液解并稀释至刻度。精密量取 5, 10, 15, 20, 25 mL,分别置 100 mL 量瓶中,加流动相至刻度,摇匀。精密吸取上述溶液各 20μL,分别注入色谱仪,测定峰面积值。以

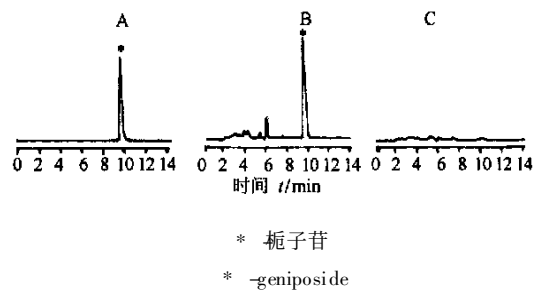


图 1 栀子苷对照品 (A)、蚁肝康颗粒 (B) 和阴性对照 (C) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of geniposide reference substance (A), Yigankang Granula (B) and blank (C)

溶液浓度为横坐标,以峰面积值为纵坐标进行线性回归,得回归方程: $Y = 1.5033 \times 10^6 X - 1.0330 \times 10^4$, $r = 0.9999$ 。结果表明: 栀子苷在 0.202 4~1.012 0 μg 时,其峰面积与浓度之间线性关系良好。

2.6.2 精密度试验: 精密吸取上述栀子苷对照品溶液 (30μg/mL) 20μL,分别连续进样 8 次,测定栀子苷峰的峰面积,其峰面积值 RSD 为 0.4%。

2.6.3 重现性试验: 取同批供试品 5 份,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,按上述色谱条件测定,栀子苷平均含量为 23.325 4 mg/袋, RSD 值为 1.4%。

2.6.4 稳定性试验: 取供试品溶液 (000820 批号) 及栀子苷对照品溶液,在 0, 2, 4, 6, 12, 24 h 测定峰面积,计算得峰面积值的 RSD 分别为 0.5% 和 0.62% ($n = 6$)。结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.6.5 回收率试验: 取已知栀子苷含量的供试品 (1.115 8 mg/g),研细,精密称取 6 份,每份约 2 g,置具塞锥形瓶中,其中 3 份精密加入上述栀子苷对照品溶液 25 mL,再精密加入甲醇 25 mL; 另外 3 份精密加入上述栀子苷对照品溶液 50 mL。按 2.3 项下方法操作,分别注入液相色谱仪,在上述色谱条件下测定栀子苷峰面积。结果平均回收率为 95.6%, RSD 值为 1.1% ($n = 6$)。

2.7 供试品含量测定: 取本品,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,按上述色谱条件测定,结果见表 1

表 1 蚁肝康颗粒中栀子苷含量测定结果 ($n = 3$)

Table 1 Geniposide in Yigankang Granula ($n = 3$)

批 号	含量 / (mg·袋 ⁻¹)	RSD / %
000814	19.785 2	0.29
00817	22.596 4	0.42
000820	23.200 5	0.07
000821	21.670 9	0.59
000822	22.723 1	0.48

3 讨论

3.1 栀子苷提取条件的选定: 本方中共含 13 味药

材,成分较为复杂,多含有萜类、皂苷、黄酮等成分,且剂型为颗粒剂,含有大量的糖,对色谱结果的干扰较大。故采用甲醇为提取溶剂,再通过大孔吸附树脂柱处理,用 50%乙醇洗脱,既可有效地去除糖的干扰,又可富集制剂中栀子苷成分,再经正丁醇提取,氨试液洗涤以除去水溶性黄酮等杂质,即可达到纯化供试品的目的。所得的供试品溶液使被测成分栀子苷能得到很好分离,保留时间也与对照品一致,阴性

对照溶液亦无干扰。

3.2 检测波长的确定:采用 Waters 996型二极管阵列检测器,对栀子苷对照品的色谱峰扫描,于最大峰高处,提取紫外吸收图谱。结果最大吸收波长为 238.4 nm,故选定 238 nm为检测波长。

3.3 本实验建立了蚁肝康颗粒中栀子苷含量的 HPLC测定方法,实验结果表明,本法便捷、灵敏、准确,重现性好,可以控制该药品的质量。

HPLC法测定山茱萸胶囊中熊果酸和齐墩果酸的含量

皮文霞,蔡宝昌,邱建红*

(南京中医药大学药学院,江苏 南京 210029)

山茱萸胶囊由山茱萸有效部位环烯醚萜总苷及总三萜酸经特殊制剂工艺制备而成。对糖尿病微血管并发症有独特疗效。熊果酸和齐墩果酸为山茱萸胶囊的主要有效成分。由于熊果酸和齐墩果酸结构极相似,所以对两者的分离较困难^[1,2]。本实验建立的山茱萸胶囊中熊果酸和齐墩果酸含量的 HPLC测定方法,较《中华人民共和国药典》2000年版使用的薄层扫描法操作更简便准确,且本法可使熊果酸和齐墩果酸达到基线分离,从而准确定量。

1 仪器与试药

美国 Agilent 1100高效液相色谱仪, DAD检测器。甲醇、乙腈为色谱纯,其余均为分析纯,水为亚沸蒸馏水。熊果酸和齐墩果酸对照品由中国药品生物制品检定所提供。山茱萸胶囊(自制,批号:020612, 020615, 020618)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱: Zirchrom, romasil ODS-1 (250 mm× 4.6 mm);流动相:乙腈-甲醇-水-醋酸铵 (80:10:10:0.5);柱温:30℃;流速:1 mL/min;检测波长:215 nm。

2.2 标准曲线的绘制:精密称取熊果酸、齐墩果酸对照品,用甲醇配制成 120.2(熊果酸)、102.0 μg/mL(齐墩果酸)的混合对照品溶液。精密吸取混合对照品溶液 10, 15, 20, 25, 30, 35 μL进样,齐墩果酸的出峰时间为 13.171 min,熊果酸的为 14.038 min。以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲

线。回归方程为:熊果酸 $Y = 22.276X + 32.671$, $r = 0.9991$,线性范围为 0.60~2.10 μg;齐墩果酸 $Y = 17.784X - 15.067$, $r = 0.9999$,线性范围为 0.51~1.79 μg。

2.3 供试品溶液的配制:精密称取山茱萸胶囊内容物 0.5 g,加甲醇 20 mL超声提取 10 min,再以甲醇定容至 25 mL量瓶中。用 0.45 μm微孔滤膜滤过,备用。

2.4 精密度试验:以上述混合对照品溶液进样 10 μL,重复进样 5次。按熊果酸及齐墩果酸的平均峰面积计算,得熊果酸 RSD为 0.85%,齐墩果酸 RSD为 0.94%。

2.5 稳定性试验:精密吸取供试品溶液 15 μL,分别间隔 0, 1, 3, 6, 12, 24, 36 h进样,按熊果酸、齐墩果酸峰面积计算, RSD分别为 1.3%、1.7%。结果显示供试品溶液在 36 h内稳定。

2.6 重现性试验:精密称取山茱萸胶囊同一批(020612)样品,按上述供试品溶液制备方法制备 5份供试品溶液,依法测定。结果熊果酸及齐墩果酸含量的 RSD分别为 1.2%、1.6%。

2.7 加样回收率试验:精密称取熊果酸、齐墩果酸对照品适量,加入 3粒山茱萸胶囊,测定,结果齐墩果酸的平均回收率为 100.91%, RSD= 1.08% ($n = 5$),熊果酸的平均回收率为 99.83%, RSD= 1.22% ($n = 5$)。

(下转附 11页)

* 收稿日期: 2003-04-20

作者简介:皮文霞(1968-),女,安徽霍邱人,博士,南京中医药大学药化教研室讲师,研究方向为中药新药和指纹图谱。

Tel (025) 6798164 (0)