

分别为 0.66%、0.79%、1.58%。

2.7 稳定性试验:取上述供试品溶液分别于 0、1、2、4、6、8 h,进样 20 μ L,测定各组分峰面积,三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、 R_{b1} 的 RSD 分别为 0.35%、0.14%、0.49%,结果供试品溶液在 8 h 内是稳定的。

2.8 重现性试验:精称同一批次三七总皂苷 6 份,加 20%乙腈溶解,制成 1 mg/mL 的供试品溶液,进样 20 μ L,以峰面积外标法计算测定质量分数,结果三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g1} 、 R_{b1} 的 RSD 分别为 2.02%、2.25%、2.09%。

2.9 加样回收率试验:取同一批次三七总皂苷 9 份,约 1 g,精密加入三七皂苷 R_1 对照品 63.69、78.17、92.64 μ g,人参皂苷 R_{g1} 对照品 202、342、388 μ g,人参皂苷 R_{b1} 对照品 246、270、363 μ g,按供试品溶液制备处理,测定,计算回收率,结果三七皂苷 R_1 的平均回收率为 101.0%,RSD 为 2.2% ($n=9$);人参皂苷 R_{g1} 的平均回收率为 98.5%,RSD 为 1.8% ($n=9$);人参皂苷 R_{b1} 的平均回收率为 100.8%,RSD 为 2.0% ($n=9$)。

2.10 样品测定:5 批三七总皂苷原料,每批重复测定 2 次,结果见表 2。

表 2 三七总皂苷中有效成分测定结果

Table 2 Determination of active components in total saponins of *P. notoginseng*

批号	三七皂苷 R_1 /%	人参皂苷 R_{g1} /%	人参皂苷 R_{b1} /%
HB20040807	7.97	31.82	28.25
HB20040806	7.93	31.90	28.42
HB20040609	7.39	29.75	26.26
HB20040904	7.63	30.62	27.43
HB20040905	7.70	30.98	27.60

3 讨论

3.1 目前多用薄层色谱法、比色法、高效液相色谱法检测皂苷类成分,但薄层扫描法影响因素多,结果误差大且费时较长;比色法多用于总皂苷的测定,但重现性较差;高效液相色谱法使用的检测器有紫外和蒸发光检测器,而后者还未能普及,紫外检测虽皂苷类成分为末端吸收但只要选好色谱条件仍能得到较好的分离。

3.2 本实验曾用甲醇和 30%、40%、50%、60%、100%乙腈水溶液为溶剂溶解对照品和三七总皂苷原料,结果以甲醇溶解溶剂峰干扰较大,40%以上乙腈水溶液溶解色谱图也出现较大干扰峰(100%乙腈中不能全溶),20%乙腈色谱峰峰强最大且体积分数越低样品溶解的越好,因此,最终选择以 20%乙腈水溶液为溶剂。

3.3 梯度洗脱与等度条件相比要快速、简便。而由于梯度条件造成的基线漂移较大,通过调整色谱条件,可得到满意效果。

References:

- [1] Wang M, Fang Y G, Gao W F. Quantitative determination of notoginsenoside R_1 and ginsenoside R_{g1} , R_{b1} content in total notoginsenoside of *Panax notoginseng* and Xuesaitong Injection by HPLC gradient elution method [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2000, 20 (6): 410-413.
- [2] Shen G F, Wu Y J, Cheng L Y. Quantitative determination of Xueshuanlong Injection by RP-HPLC [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2003, 38 (9): 698-699.
- [3] Yang N L, Wu Y J, Cheng Y Y. Simultaneous determination of notoginsenoside R_1 , ginsenoside R_{g1} , R_{b1} , and R_d in *Panax notoginseng* herb using reversed phase high performance liquid chromatographic method [J]. *Chin J Anal Chem* (分析化学), 2003, 31 (6): 713-734.

HPLC 法测定复方姜黄降脂片中姜黄素

于得才, 何媛媛, 李红英, 孔令辉

(包头中药有限责任公司, 内蒙古 包头 014040)

复方姜黄降脂片是由姜黄提取物和牡丹皮提取物组成的复方 5 类新药,具有行气活血、化瘀通脉之功效,用于气滞血瘀之高脂血症。姜黄提取物系用超临界 CO_2 流体萃取技术提取而得,是一类姜黄酚性色素类成分,其中除主要含有姜黄素外,尚含有去甲

氧基姜黄素(demethoxycurcumin)和二去甲氧姜黄素(bisdemethoxycurcumin)。姜黄素具有较好的调血脂、抗氧化、抑制血小板凝聚和增强纤溶活性^[1]。姜黄提取物在方中为君药,因此,本实验建立了 HPLC 法测定姜黄素^[2,3]。该法准确,分离效果好,回

收稿日期:2005-04-20

作者简介:于得才(1973—),男,内蒙古赤峰人,工程师,研发中心主任,1999 年毕业于内蒙古医学院,主要从事药物制剂及质量标准方面的研究。Tel: (0472) 4616327 Fax: (0472) 4614397 E-mail: yudecai3000@263.net

收率高,重现性好。

1 仪器与试剂

Waters 515/2487 高效液相色谱仪,泰立色谱工作站。

姜黄素对照品购自中国药品生物制品鉴定所(批号:0823-9802),甲醇为色谱纯,冰醋酸为分析纯,水为双蒸水,复方姜黄降脂片由本公司自制。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱:迪马 C₁₈ 色谱柱(200 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(45:55,含 10.6%冰醋酸);检测波长:421 nm。理论板数按姜黄素峰计算应不低于 1 500。

2.2 对照品溶液的制备:精密称取姜黄素对照品适量,加甲醇制成 0.01 mg/mL 的溶液,即得。

2.3 供试品溶液的制备:取本品,除去薄膜衣,研细,取约 0.1 g,精密称定,置 100 mL 量瓶中,加甲醇适量,超声处理 15 min,加甲醇稀释至刻度,滤过,精密量取续滤液 1 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.4 标准曲线的制备:精密吸取 10.10 μg/mL 姜黄素对照品溶液 2.0、6.0、10.0、12.0、16.0、20.0 μL,注入液相色谱仪,记录相应的峰面积值。以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $A=1.66 \times 10^5 + 1.41 \times 10^5 C$, $r=0.999\ 9$ 。结果表明,姜黄素在 0.020 2~0.202 0 μg 时,与峰面积呈良好线性关系。

2.5 精密度试验:分别精密吸取 10.10 μg/mL 姜黄素对照品溶液 10 μL,分别连续进样 6 次,测峰面积值,结果其 RSD 为 0.73% ($n=6$)。

2.6 稳定性试验:精密称取本品 0.1 g,制备供试品溶液,于 0、1、3、5、8 h 测定峰面积值。结果姜黄素峰面积的 RSD 为 0.63%,表明在 8 h 内测定是稳定的。

2.7 重现性试验:取本品 0.1 g,分别精密称取 5 份,制备供试品溶液,进样测定,结果姜黄素的质量分数为 97.2 mg/g, RSD 为 1.00% ($n=5$)。

2.8 加样回收率试验:精密称取 5 份本品,各约 12.5 mg,分别置 25 mL 量瓶中,加入 1.010 mg/mL 姜黄素对照品溶液 1.25 mL,加甲醇适量,超声提取 15 min,加甲醇稀释至刻度,滤过,精密吸取续滤液 1 mL 置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,即得。分别吸取 10 μL 进样测定,计算得平均回收率为 97.6% RSD 为 0.66% ($n=5$)。

2.9 测定:取本品约 0.1 g,精密称定,按供试品溶液方法处理,进样测定,色谱图见图 1,结果见表 1。

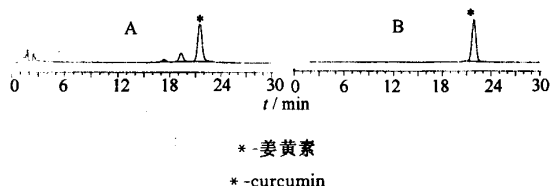


图 1 复方姜黄降脂片(A)和姜黄素对照品(B)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of Compound Jianghuang Jiangzhi Tablets (A) and curcumin reference substance (B)

表 1 复方姜黄降脂片中姜黄素的测定结果 ($n=5$)
Table 1 Determination of curcumin in Compound Jianghuang Jiangzhi Tablets ($n=5$)

批 号	姜黄素/(mg·g ⁻¹)
040211	96.8
040212	92.3
040213-1	90.5
040213-2	91.3
040214	97.8

3 讨论

3.1 检测波长的选择:对姜黄素对照品甲醇溶液的紫外-可见光(200~600 nm)扫描发现,姜黄素在 204、254、421 nm 处均有较大吸收,在 421 nm 处有最大吸收,但牡丹皮提取物(主要成分为丹皮酚)在 200~350 nm 有较大吸收,因此在 254 nm 处对姜黄素测定有干扰,而在可见区 350 nm 处牡丹皮提取物没有吸收干扰,故选择 421 nm 处作为姜黄素测定的检测波长。

3.2 流动相的选择:本实验流动相中加入了一定量的醋酸,对姜黄素起离子抑制作用,使 3 种姜黄素达到较好分离。pH 值在 3.2 左右,虽然酸度较高,但仍在硅胶键合相 pH 范围内,且分离效果优于文献报道方法^[2,3]。

3.3 根据试验结果发现,本法操作简便,结果准确,重现性好,可作为该制剂的质量控制方法。

References:

- [1] Xu S B, Tang X L. Survey of studies on the pharmacological actions of curcumin [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1991, 22 (3): 140-141.
- [2] Yang Q Z, Liu G M. Quantitative determination of curcumin by RP-HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1995, 26 (2): 76.
- [3] Wang Y. Determination of three curcuminoid constituents in *Rhizoma curcumae* by HPLC [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1999, 34 (6): 467.