

RP-HPLC 法测定桤榆洗剂中栀子苷含量

许庆, 荀秀彪, 肖植国

(云南省曲靖市食品药品监督管理局, 云南 曲靖 655000)

摘要:目的 建立反向高效液相色谱法(RP-HPLC)测定桤榆洗剂中栀子苷的含量。方法 采用反向高效液相色谱法进行测定, 色谱柱为十八烷基键合硅胶柱(Agilent Eclipse plus C18 色谱柱, 4.6×250 mm, 5 μ m); 流动相为甲醇-水(5:95)进行梯度洗脱, 流速为 1.0 ml/min; 色谱柱温: 30 $^{\circ}$ C; 检测器检测波长: 238 nm。结果 栀子苷浓度在 22.4~168.0 μ g/ml 时与峰面积呈良好线性关系, $r=0.9999$, 平均回收率为 97.44%(RSD 为 1.27%)。结论 本次建立的方法准确、快速、简便可靠, 结果稳定, 可用于桤榆洗剂中栀子苷的含量测定。

关键词:桤榆洗剂; 栀子苷; 高效液相色谱法

中图分类号: R29

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2020.14.059

文章编号: 1006-1959(2020)14-0177-03

Determination of Jasminoidin in Zhiyu Lotion by RP-HPLC

XU Qing, XUN Xiu-biao, XIAO Zhi-guo

(Qujing Food and Drug Inspection and Testing Center, Qujing 655000, Yunnan, China)

Abstract: Objective To establish a reverse high performance liquid chromatography (RP-HPLC) method for the determination of jasminoidin in Zhiyu lotion. Methods The chromatographic column was octadecyl bonded silica gel column (Agilent Eclipse plus C18 column, 4.6 mm×250 mm, 5 μ m), the mobile phase was methanol-water (5:95) for gradient elution, the flow rate was 1.0 ml/min; chromatographic column temperature: 30 $^{\circ}$ C; detection wavelength: 238 nm. Results The concentration of jasminoidin showed a good linear relationship with the peak area at 22.4~168.0 μ g/ml, $r=0.9999$, and the average recovery rate was 97.44% (RSD was 1.27%). Conclusion The established method is accurate, rapid, simple and reliable, and the results are stable. It can be used to determine the content of jasminoidin in the lotion.

Key words: Zhiyu lotion; Jasminoidin; HPLC

桤榆洗剂是曲靖市中医院研制的制剂, 由栀子、地榆、马齿苋、苦参、大黄、白鲜皮、地肤子、豨莶草、荆芥、防风、白矾 11 种中药组成, 具有清热解毒凉血、祛风燥湿止痒。目前临床主要用于湿疹、银屑病、各种皮炎。制剂中栀子具有清热凉血解毒之功效, 栀子的有效成分为栀子苷、熊果酸和总有机酸^[1], 其中栀子苷药理作用广泛, 生物学效应丰富, 具有保肝利胆、抗氧化、镇痛及抗炎等作用^[2,3]。由于不同产地来源的栀子中栀子苷含量存在显著差异^[4,5], 而桤榆洗剂现行质量标准较为简单仅以薄层色谱来鉴别其中部分药材, 未建立制剂含量测定方法。本文参照文献^[6], 以栀子苷为定量控制指标, 采用反向高效液相色谱法对栀子苷进行含量测定, 为有效控制桤榆洗剂质量提供了可靠且简便易行的方法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Agilent1260 型高效液相色谱仪 (安捷伦科技有限公司, 检测器: DAD); XPR2003SC 梅特勒电子天平 (梅特勒-托利多仪器有限公司, 双量程 0.1 mg/0.01 mg); HHS226 恒温水浴锅 (江苏省仪器厂); 一体式超纯水仪 (PURELAB Flex 3, 英国 ELGA 公司)。

1.2 试剂 对照品: 栀子苷 (批号 110749-201919, 供含量测定用, 含量以 97.1% 计) 来源于中国食品药品检定研究院; 甲醇为色谱纯, 水为纯化水。样品: 桤榆洗剂 (由曲靖市中医院制剂室提供, 批号分别为: S2018003、S2019001、S2019003)。阴性样品: 缺栀

子阴性对照样品由曲靖市中医院制剂室提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Agilent Eclipse plus C18 (4.6×250 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇(A)-水(B) (5:95); 梯度洗脱 (程序: 0~11 min, 5% 甲醇; 11~15 min, 5%~30% 甲醇; 15~25 min, 30% 甲醇; 25~26 min, 30%~90% 甲醇; 26~40 min, 90% 甲醇; 40~41 min, 5% 甲醇; 41~60 min, 5% 甲醇), 流速: 1.0 ml/min, 柱温: 30 $^{\circ}$ C, 检测波长: 238 nm, 进样量: 10 μ l。

2.2 溶液制备

2.2.1 供试品溶液制备 取本品, 混匀, 精密量取溶液 10 ml, 置具塞锥形瓶中, 于水浴上蒸干, 加入甲醇约 20 ml, 于水浴回流 1.5 h, 放冷, 过滤至 25 ml 量瓶中, 用少量甲醇洗涤锥形瓶及残渣, 合并洗液滤入量瓶中, 定容, 摇匀, 滤过, 取续滤液即得。

2.2.2 对照品储备液的制备 精密称取栀子苷对照品 11.54 mg 置 100 ml 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 即得栀子苷质量浓度为 0.112 mg/ml 的对照品溶液。

2.2.3 阴性样品溶液的制备 取缺栀子阴性对照样品, 按照供试品溶液制备方法制备阴性对照溶液。

2.3 线性关系考察 分别精密吸取“2.2.2”项下栀子苷对照品溶液适量制成含栀子苷 22.4、44.8、67.2、89.6、112.0、168.0 μ g/ml 的系列对照品溶液。在“2.1”项下色谱条件进样分析, 以对照品浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 计算线性回归方程, 得栀子苷的回归方程 $Y=15.918X+19.707$ ($r=0.9999$)。结

作者简介: 许庆 (1984.10-), 男, 云南师宗县人, 本科, 主管药师, 主要从事食品药品检验检测工作

果显示: 梔子苷浓度在 22.4~168.0 $\mu\text{g/ml}$ 时具有良好线性关系。

2.4 精密度试验 精密吸取同一梔子苷对照品溶液(含梔子苷 67.2 $\mu\text{g/ml}$)在“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次,测定峰面积值,RSD 为 1.0%,仪器的精密度良好。

2.5 重复性试验 取同一批梔子苷洗剂(批号 S2019001)6 份,按“2.2.1”项下的方法处理,记录峰面积,计算含量,每 1 ml 样品中平均含梔子苷 92.5 μg ,RSD 为 1.3%,本方法的重复性良好。

2.6 稳定性试验 取同一份供试品溶液(批号 S2019001),分别于 0、2、4、8、12、24 h 按“2.1”项下色谱条件进行分析,记录峰面积。结果梔子苷的 RSD 为 1.4%,供试品溶液在 24 h 内质量稳定。

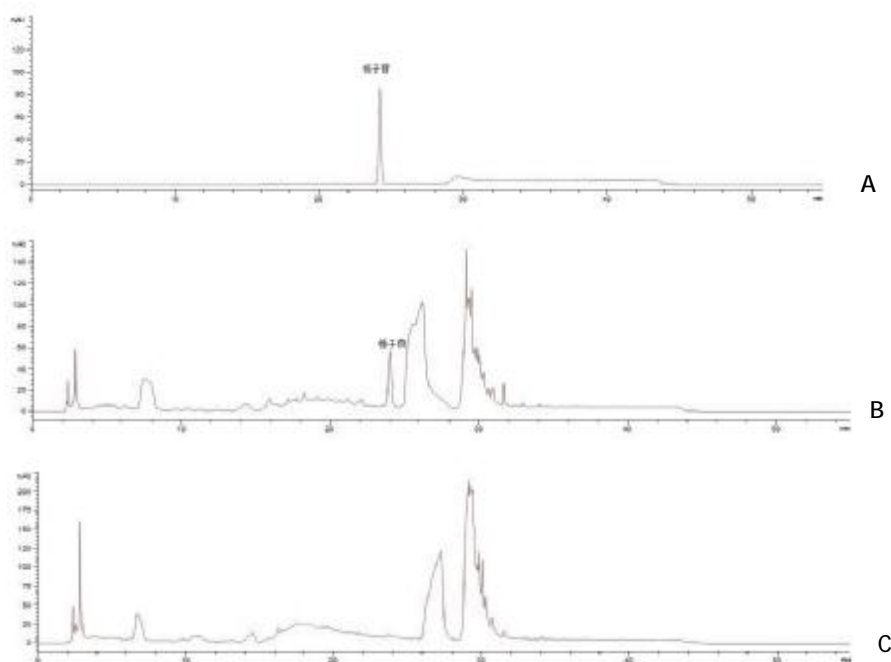
2.7 加样回收率试验 精密量取已知含量的同一批梔子苷洗剂(批号 S2019001)5.00 ml,共 6 份,分别精密加入对照品溶液(浓度为 0.112 mg/ml)5.0 ml,按“2.2.1”项下的方法处理,制备供试液,分别测定,计算回收率。结果显示平均回收率为 97.44%,RSD 为 1.27%,见表 1。

2.8 专属性试验 将阴性样品溶液按“2.1”项下色谱条件进样分析,记录色谱图,见图 1。结果色谱图中在梔子苷相应出峰位置未出现干扰峰。

2.9 样品含量测定 精密量取不同批号的供试品 3 批按“2.2.1”项下的方法处理,制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,按上述色谱条件测定峰面积积分值,以外标法计算梔子苷含量,见表 2。

表 1 加样回收率试验结果($n=6$)

序号	取样量(ml)	样品中梔子苷量(mg)	加入梔子苷量(mg)	测得梔子苷总量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	5.00	0.462	0.560	1.001	96.25		
2	5.00	0.462	0.560	0.998	95.71		
3	5.00	0.462	0.560	1.011	98.03		
4	5.00	0.462	0.560	1.009	97.68	97.44	1.27
5	5.00	0.462	0.560	1.010	97.86		
6	5.00	0.462	0.560	1.017	99.11		



注:A 对照品;B 供试品;C 阴性对照

图 1 高效液相色谱图

表 2 样品含量测定结果($\mu\text{g/ml}$)

批号	梔子苷含量				RSD(%)
	1	2	3	平均值	
S2018003	10.0	10.0	10.0	82.8	1.32
S2019001	10.0	10.0	10.0	91.8	1.47
S2019003	10.0	10.0	10.0	85.4	1.25

3 讨论

3.1 流动相的选择 本实验先后试用文献中^[6]乙腈-水、乙腈-0.5%磷酸、甲醇-水为流动相,其中乙腈-水及甲醇-水为流动相时样品中栀子苷均能得到很好地分离,但考虑到甲醇成本及污染较小,故选用甲醇-水为流动相;由于制剂组分复杂,样品处理简单,在目标峰出峰后,采用高比例有机相冲洗色谱柱中强保留成分,故采取了甲醇-水(5:95)梯度洗脱,缩短分析时间。结果能得到对称较好的栀子苷峰,且栀子苷与其它相邻杂质能很好地分离,故确定实验流动相为甲醇-水(5:95)梯度冲洗。

3.2 波长的选择 对栀子苷进行全波长扫描,发现在 238 nm 和 254 nm 波长处均有吸收,但比较了 238 nm 和 254 nm 波长下的色谱图,其中在 238 nm 下各主成分峰灵敏度高、杂质干扰小,故采用 238 nm 作为检测波长。

3.3 样品提取方法的选择 本实验分别使用甲醇、三氯甲烷、乙醚等有机溶剂直接萃取样品,但由于制剂处方成分复杂,萃取时容易发生乳化现象,回收率较低。后改用水浴回流的提取方法,能获得较好的回收率且操作简便,故提取方法选择水浴回流。

3.4 水浴回流提取时间的选择 本实验将样品水浴回流 0.5、1、1.5、2 h 后进行含量测定,结果样品水浴

回流 1.5h 后栀子苷含量基本不变,证明样品水浴提取 1.5 h 后,能将样品中的栀子苷提取完全,所以样品水浴回流时间确定为 1.5 h。

综上所述,本实验建立的 RP-HPLC 法测定栀榆洗剂中栀子苷含量,重点为提高栀榆洗剂质量标准,严格监控有效成分;本方法能准确、快速检测栀子苷含量,简便可靠,结果稳定,可用于栀榆洗剂中栀子苷的含量测定;另栀榆洗剂中药材种类较多,本文中测定方法的建立,可为下一步增加多组分质量控制提供参考依据。

参考文献:

- [1]吕武清,龙新华.中成药中的药材薄层色谱鉴别[M].北京:人民卫生出版社,1996:383-384.
- [2]王恩力,董方,姚景春.栀子苷药理学和毒理学研究进展[J].中国药房,2015,26(19):2730-2733.
- [3]陈丽萍,王先敏,李茂星,等.栀子中抗氧化的活性成分研究[J].华西药学杂志,2018,33(2):179-182.
- [4]费曜,段恒,王刚,等.不同产地栀子种质资源和药材品质的比较[J].华西药学杂志,2016,31(1):48-51.
- [5]邱婧然,邓雪华,熊辉,等.不同产地栀子中栀子苷含量的比较[J].中国现代中药,2016,18(3):316-317.
- [6]国家药典委员会.中华人民共和国药典:2015年版一部[S].北京:中国医药科技出版社,2015:248.

收稿日期:2020-03-13;修回日期:2020-04-02

编辑/成森