

反相高效液相色谱法测定 清开灵分散片中栀子苷含量

程齐来^{①a} 李洪亮^a 张道英^a 彭金年^{a,b}

^a(赣南医学院药学院 江西省赣州市医学院路1号 341000)

^b(江西省高等学校天然药物研究与开发重点实验室 江西省赣州市 341000)

摘要 对中药复方制剂清开灵分散片中有有效成分栀子苷进行含量测定。采用反相高效液相色谱法, Agilent 1100 ZORBAX Eclipse XDB-C18 色谱柱(4.6mm×150mm, 5μm), 乙腈-水(15:85, V/V)为流动相, 检测波长为238nm, 流速1.0mL/min, 柱温25℃。栀子苷在0.0593—1.4825μg·mL⁻¹范围内与峰面积呈良好的线性关系, $r=0.9999$, 平均加样回收率为98.93% ($n=6$), RSD=1.21%。该方法快速简便、灵敏度和稳定性高, 可有效控制清开灵分散片的内在质量。

关键词 清开灵分散片; 栀子苷; 反相高效液相色谱法

中图分类号: O657.7+2

文献标识码: B

文章编号: 1004-8138(2010)05-2016-04

1 引言

清开灵处方由黄芩苷、胆酸、猪去氧胆酸、栀子、水牛角、珍珠母、板蓝根和金银花等八味组成, 具有卓著的清热解毒作用^[1]。清开灵分散片是由国家新药转正标准第35册“WS3-203(Z-203)-202(Z)”清开灵泡腾片剂改制而成。栀子为该处方中主要成分之一, 具有清热利湿, 泻火解毒功效, 对本方的临床疗效有重要作用, 以栀子中主要有效成分栀子苷为定量监控指标可有效地控制产品的质量。为控制产品质量, 本实验采用反相高效液相色谱法对清开灵分散片中有有效成分栀子苷进行了含量测定, 结果表明该方法具有简便、准确、无干扰的特点, 为该制剂的质量控制提供了客观的定量分析方法。

2 实验部分

2.1 仪器、试剂与试剂

Agilent1100 高效液相色谱仪(美国Agilent公司), DAD 检测器, 色谱柱为ZORBAX Eclipse XDB-C18(4.6mm×150mm, 5μm), 20μL 手动六通阀微量进样器; RE-52AA 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂); Academic Millepore 超纯水发生器(上海博迅公司); FA2104 电子天平(上海良平仪器仪表有限公司)。

清开灵分散片购自江西赣州市华尔康大药房, 哈药集团三精千鹤制药有限公司生产, 批号为20080915、20080925、20081015。试验用的栀子苷对照品, 购自中国药品生物制品检定所, 批号为110749-200709(供含量测定用)。乙腈、甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。实验用水为超纯水。

① 联系人, 手机: (0) 18970786158; E-mail: cq_l_57@126.com

作者简介: 程齐来(1978—), 男, 湖北省红安县人, 讲师, 硕士研究生, 主要从事生药学相关的教学与科研工作。

收稿日期: 2009-11-13; 接受日期: 2009-12-30

2.2 实验方法

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验

用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 流动相为乙腈-水(15:85, V/V); 参考《中国药典》2005 年版梔子药材的含量测定方法检测波长^[2,3]: 238nm; 流速: 1mL/min; 理论板数定为按梔子苷峰计算应不低于 1500, 能达到分离的要求, 实际测得的理论板数均达到 1500。

2.2.2 对照品溶液的制备

准确称取梔子苷对照品 5.93mg, 用甲醇溶解并用其定容至 100mL, 得对照品溶液(59.3 μg · mL⁻¹)。

2.2.3 供试品溶液的制备

准确取本品粉末 0.1g, 置于具塞锥形瓶中, 准确加入甲醇 25mL, 密塞, 称定重量, 超声处理 20min, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 过滤, 准确量取续滤液 10mL, 置于 25mL 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

另按同法制备本处方除“梔子”外其他药材制成的阴性样品, 说明群药对梔子苷的含量测定不影响。

3 结果与讨论

3.1 校准曲线和线性关系

线性考察: 分别准确吸取对照品溶液 1、5、10、15、20、25μL, 注入液相色谱仪, 按上述色谱仪条件检查, 结果见图 1。以对照品含量为横坐标, 峰面积积分值为纵坐标, 进行线性回归求得曲线的回归方程为 $y = 4.12 \times 10^{-4}x + 1.43 \times 10^{-3}$, $r = 0.9999$, 线性范围为 0.0593—1.4825μg · mL⁻¹。

3.2 稳定性测定

供试品溶液(批号 20080915)配制完成后, 在 8h 内(0, 2, 4, 6, 7, 8h)量取一定量, 注入液相色谱仪, 测得梔子苷碱峰面积平均值 $y = 1137.9$, $RSD = 0.99\%$ ($n = 6$), 可以说明该方法稳定性很好。

3.3 精密度测定

精密度实验是在规定的测试条件下, 对同一个均匀供试品, 经多次取样测定所得结果之间接近的程度。当准确量取对照品溶液 20μL, 按色谱条件进样 6 次, 梔子苷峰面积平均值 $y = 1138.1$, $RSD = 1.26\%$ ($n = 6$), 可以说明该方法精密度很好。

3.4 重复性测定

准确量取同批(批号 20080915)供试品溶液 20μL, 按色谱条件进样 6 次, 梔子苷峰面积平均值 $y = 1170.4$, 平均值 12.04mg · g⁻¹, $RSD = 1.62\%$ ($n = 6$)。说明本方法重现性很好。

3.5 回收率测定

取已知含量供试品(批号 20080915)一定量, 加入梔子苷对照品适量, 照供试品溶液的测定方法测定, 结果见表 1。

表 1 加样回收率测定结果 (n=6)

实验序号	取样量 (g)	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	0.0503	0.606	0.593	1.20	100.17	98.93	1.21
2	0.0496	0.597	0.593	1.18	98.31		
3	0.0501	0.603	0.593	1.20	100.67		
4	0.0497	0.598	0.593	1.19	99.83		
5	0.0497	0.598	0.593	1.17	96.46		
6	0.0497	0.598	0.593	1.18	98.15		

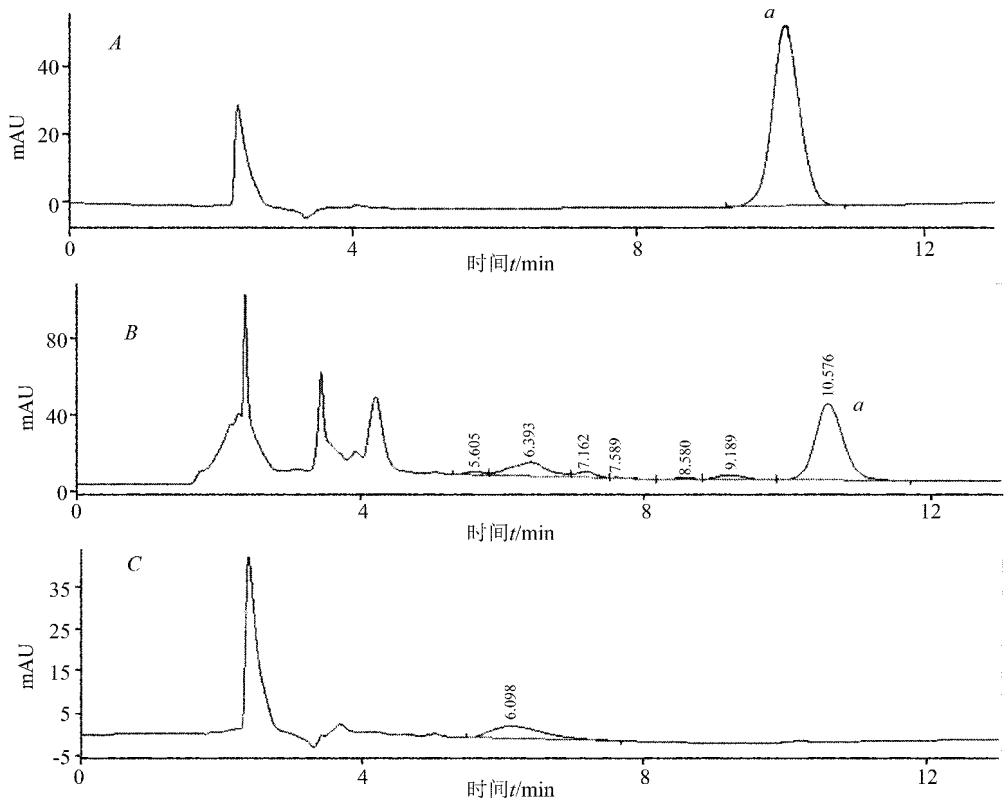


图 1 清开灵分散片的 HPLC 图
A —— 对照品; B —— 供试品; C —— 阴性对照样品; a —— 栀子苷。

3. 6 样品测定

3 批样品的测定结果见表 2。

表 2 样品测定结果 (n= 6)

批号	平均值($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	RSD(%)
20080915	12. 04	0. 94
20080925	12. 10	0. 35
20081015	11. 92	0. 71

4 结论

(1) 当选用色谱柱 ZORBAX Eclipse XDB-C18(4. 6mm × 150mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水 (15 : 85, V / V); 检测波长: 238nm; 流速: 1mL · min⁻¹; 柱温控制在 25℃, 进样量 20 μL 的色谱条件下, 方法学验证结果为: 稳定性实验RSD= 0. 99%(n= 6), 精密度实验RSD= 1. 26%(n= 6), 重复性实验RSD= 1. 62%(n= 6), 加样回收率平均值 $\bar{y}$ = 98. 93%, RSD= 1. 21(n= 6), 说明本方法精密、重现性、加样回收率均较好。

(2) 本文方法简便准确, 稳定性、重现性好, 适用于清开灵分散片中栀子苷含量测定, 可用于该制剂的质量控制。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中国药典 2005 年版一部[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 519.

[2] 赵绪元, 姚金成. 反相高效液相色谱法测定清开灵注射液中 2 组分的含量[J]. 中国药房, 2007, 18(3): 202—204.

[3] 刘明, 王慧森. 清开灵分散片处方及制备工艺研究[J]. 中国药师, 2007, 10(11): 1065—1067.

Determination of Jasminoidin in Qingkailing Dispersible Tablets by RP-HPLC

CHENG Qi-Lai^a Li Hong-Liang^a ZHANG Dao-Ying^a PENG Jin-Nian^{a, b}

^a(Department of Pharmacy, Gannan Medical University, Ganzhou, Jiangxi 341000, P. R. China)

^b(The Vital Lab of Natural Drugs Research and Development in Jiangxi High Schools, Ganzhou, Jiangxi 341000, P. R. China)

Abstract A method for the determination of jasminoidin in qingkailing dispersible tablets (QDT) was established. The RP-HPLC method was performed on Agilent 1100 ZORBAX Eclipse XDB-C18 column (4.6mm×150mm, 5μm). Acetonitrile and water were used as the mobile phase (15:85, V/V), detection wavelength was at 238nm, the flow rate was 1.0mL/min and the column temperature was at 25°C. In the range of 0.0593—1.4825μg·mL⁻¹ jasminoidin has good linearity with chromatograph peak area($r=0.9999$). The average recovery is 98.93% ($n=6$), and RSD is 1.21%. The method is simple, effective and with a higher sensibility and stability, and can be used to control the quality of QDT effectively.

Key words Qingkailing Dispersible Tablets; Jasminoidin; RP-HPLC

中国期刊数据库驰名网址

1. 《中国数字期刊群CHINAINFO(万方数据WANFANG DATA)》
<http://www.periodicals.net.cn> <http://www.wanfangdata.com.cn>
2. 《中国期刊网(中国知网CNKI)》
<http://www.cnki.net.cn> <http://www.chinajournal.net.cn>
3. 《中国科学引文数据库CSCD》
<http://www.sciencechina.ac.cn>

1980多种核心期刊从12400多种中文期刊中脱颖而出

北京高校图书馆期刊工作研究会最新评选结果汇编
北京大学图书馆馆长朱强等主编
北京大学出版社出版

《中文核心期刊要目总览》(2008) 化学/晶体学类核心期刊一览表

各学科5500多位专家参加了审查工作, 评议指标高达80种

序号	刊名	序号	刊名	序号	刊名
1	高等学校化学学报	10	分析测试学报	19	化学试剂
2	分析化学	11	化学通报	20	功能高分子学报
3	化学学报	12	分子科学学报	21	光谱实验室
4	催化学报	13	分析科学学报	22	合成化学
5	无机化学学报	14	中国科学(B辑), 化学	23	人工晶体学报
6	物理化学学报	15	化学进展	24	影像科学与光化学
7	有机化学	16	理化检验(化学分册)	25	计算机与应用化学
8	分析试验室	17	分子催化	26	核化学与放射化学
9	色谱	18	化学研究与应用		