

HPLC 双波长测定中药退黄外洗液中栀子苷、
甘草苷、柚皮苷的含量

林冬杰*

(梧州食品药品检验所, 广西 梧州 543002)

[摘要] 目的: 研究以 HPLC 法同时测定中药退黄外洗液中栀子苷、甘草苷、柚皮苷含量的方法。方法: 采用高效液相色谱法。色谱柱 Agilent SB-C₁₈ 柱(4.6 mm ×250 mm, 5 μm), 流动相以甲醇-水(40:60), 流速 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长, λ₁ 238 nm, λ₂ 283 nm, 柱温 30℃。结果: 栀子苷在 5.1 ~127.5 ng 线性关系良好($r=0.999\ 7$), 平均回收率为 99.41%, RSD 0.24% ($n=6$); 甘草苷在 2.3 ~53 ng 线性关系良好($r=0.999\ 5$), 平均回收率为 98.49%, RSD 1.23% ($n=6$); 柚皮苷在 4.9 ~123 ng 线性关系良好($r=0.999\ 9$), 平均回收率为 99.41%, RSD 0.48% ($n=6$)。阴性对照无干扰。结论: 该法操作简便, 结果准确可靠, 可作为中药退黄外洗液的质量控制方法。

[关键词] 中药退黄外洗液; HPLC; 栀子苷; 甘草苷; 柚皮苷

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010) 08-0074-03

HPLC determination of Geniposide, Liquiritin,
Naringin of Zhongyaotuihuangwaixiye Lotion

LIN Dong-jie

(Wuzhou institute for food and drug control, Guangxi Wuzhou 543002, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the HPLC method for determination of geniposide liquiritin and naringin in Zhongyaotuihuangwaixiye Lotion. **Method:** A Agilent SB-C₁₈ Column(4.6 mm ×250 mm, 5 μm) was used. The mobile phase was methanol-H₂O. The column temperature was 30℃. The wavelength detection was at 238 nm and 283 nm, flow rate was 1.0 mL · min⁻¹. **Result:** The linear range of Geniposide was within 5.1 ~127.5 ng($r=0.999\ 7$). The average recovery was 99.41%, RSD was 0.24% ($n=6$). The linear range of Liquiritin was within 2.3 ~53 ng ($r=0.999\ 5$). The average recovery was 98.49%, RSD was 1.23% ($n=6$). The linear range of naringin was within 4.9 ~123 ng ($r=0.999\ 9$). The average recovery was 99.41%, RSD was 0.48% ($n=6$). The negative sample had no interference. **Conclusion:** This method is simple, accurate and suitable for its assaying. It can be used for quality control in production of Zhongyao Tuihuang Waixiye Lotion.

[Key words] Zhongyao Tuihuang Waixiye Lotion; HPLC; geniposide; Liquiritin; naringin

中药退黄外洗液是由栀子、茵陈、大黄、柴胡、枳壳等 16 种中药组成。具有行气解郁、利胆退黄功效, 主要用于预防和治疗新生儿黄疸, 黄疸性肝炎等疾病, 临床疗效较好。查阅文献, 有薄层鉴别^[1]、栀

子苷含量测定^[2]及大黄酸含量测定^[3]等方面的报道, 本文采用 HPLC 双波长的方法, 能同时检测中药退黄外洗液中栀子苷、甘草苷和柚皮苷的含量, 为更好控制该药品的质量提供了依据。

1 仪器与试药

安捷伦 Agilent-1200 高效液相色谱仪, ChemStation 色谱工作站, 可变波长检测器, 日本 AND GR-202 电子分析天平。中药退黄外洗液及缺

[收稿日期] 20100223(009)
[通讯作者] 林冬杰, Tel: (0774) 3823896; E-mail: 0774.0774@163.com

栀子、甘草、枳壳阴性样品由南宁市第一人民医院制剂室提供; 栀子苷(批号 110749-200512, 供含量测定用)、甘草苷(批号 111610-200604, 供含量测定用)、柚皮苷(批号 110722-200309, 供含量测定用)对照品购于中国药品生物制品检定所; 甲醇为色谱纯; 水为纯化水; 其他化学试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 Agilent TC-C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相 甲醇-水(40:60); 流速 1.0 mL · min⁻¹; 波长切换 0~13 min 238 nm, 13~30 min 280 nm。柱温 30℃, 进样量 2 μL。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取栀子苷 12.75 mg、甘草苷 5.30 mg 与柚皮苷 12.30 mg, 置 50 mL 量瓶中加入甲醇使溶解, 并稀释至刻度, 作为对照品储备液(栀子苷 255 μg · mL⁻¹, 甘草苷 106 μg · mL⁻¹,

柚皮苷 246 μg · mL⁻¹), 精密吸取对照品储备液 1 mL 置 10 mL 量瓶中加入甲醇稀释至刻度, 作为对照品溶液(栀子苷 25.5 μg · mL⁻¹, 甘草苷 10.6 μg · mL⁻¹, 柚皮苷 24.6 μg · mL⁻¹)。

2.3 供试品溶液的制备 移液管精密量取本品 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45 μm)滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 阴性对照溶液的制备 取缺栀子、甘草、枳壳阴性样品按供试品, 按 2.3 供试品溶液的制备方法制备缺栀子、甘草及缺枳壳阴性对照溶液。

2.5 专属性试验 分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液和对照品溶液各 2 μL 注入液相色谱仪, 供试品色谱与对照品色谱相应的位置上, 有相同保留时间的色谱峰, 阴性对照试验无干扰。见图 1。

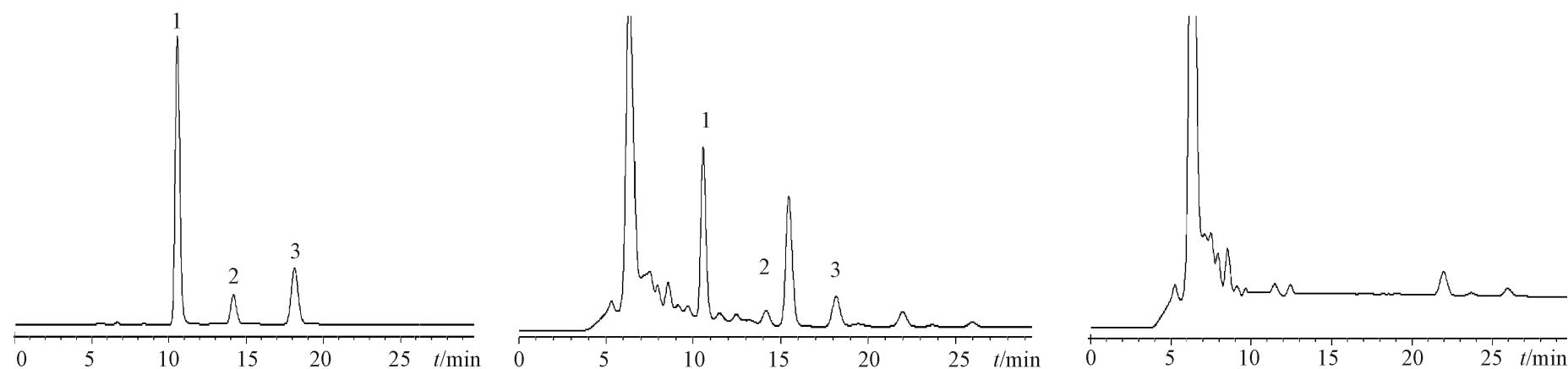


图 1 HPLC 色谱图

A. 对照品; B. 样品; C. 缺栀子、甘草、枳壳阴性样品

1. 栀子苷; 2. 甘草苷; 3. 柚皮苷

2.6 精密度试验 取对照品溶液, 按 2.1 项下色谱条件, 连续进样 6 次, 测定峰面积积分值, 栀子苷 RSD 为 0.20% (n=6), 甘草苷 RSD 为 0.30% (n=6), 柚皮苷 RSD 为 0.18% (n=6)。结果表明, 仪器精密度良好。

2.7 线性关系考察 按 2.1 的色谱条件分别精密吸取上述对照品溶液 0.2, 1, 2, 3, 5 μL 注入色谱仪, 测定, 以峰面积积分值为纵坐标(Y), 对照品进样量(ng)为横坐标(X)绘制标准曲线, 得栀子苷的回归方程为 $Y = 28.6X - 2.65$ ($r = 0.9997$); 柚皮苷的回归方程为 $Y = 35.4X + 9.0$ ($r = 0.9995$); 甘草苷的回归方程为 $Y = 29.8X - 8.2$ ($r = 0.9999$)。结果表明栀子苷在 5.1~127.5 ng 范围内, 进样量与峰面积积分值呈良好的线性关系; 甘草苷在 2.3~53 ng 范围内, 进样量与峰面积积分值呈良好的线性关系; 柚皮苷在 4.9~123 ng 范围内, 进样量与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.8 稳定性试验 取同一份样品溶液, 分别在 0, 2, 4, 8, 12 h, 按 2.1 项下色谱条件进样测定, 分别测定峰面积积分值, 栀子苷 RSD 为 0.41% (n=5), 栀子苷 RSD 为 0.83% (n=5), 柚皮苷 RSD 为 0.92% (n=5)。结果表明, 在 12 h 内待测物稳定。

2.9 重复性实验 精密称取同一批(批号 091009)样品 6 份, 按 2.1 色谱条件和 2.3 项下方法试验, 结果栀子苷平均含量是 0.564 mg · mL⁻¹, RSD 0.81% (n=6); 甘草苷平均含量是 0.084 mg · mL⁻¹, RSD 1.13% (n=6); 柚皮苷平均含量是 0.246 mg · mL⁻¹, RSD 1.10% (n=6)。结果表明, 本方法重复性良好。

2.10 加样回收率实验 精密量取已测定含量的中药退黄外洗液(栀子苷含量为 0.564 mg · mL⁻¹; 甘草苷平均含量是 0.084 mg · mL⁻¹; 柚皮苷含量为 0.248 mg · mL⁻¹) 0.5, 1, 1.5 mL 置 25 mL 量瓶中, 各取样 2 份, 精密加入栀子苷为 0.530 mg · mL⁻¹, 甘草苷为 0.090 mg · mL⁻¹, 柚皮苷为 0.220 mg ·

mL⁻¹的混合对照品溶液 0.4, 0.5, 0.6 mL, 加甲醇稀释至刻度, 按 2.1 色谱条件及 2.3 项下的方法制备供试品溶液、测定, 计算回收率, 结果见表 1, 2, 3。 栀子苷的平均回收率为 99.41%, RSD 0.24%; 甘草苷的平均回收率为 98.49%, RSD 1.23%; 柚皮苷的平均回收率为 99.41%, RSD 0.48%。 结果表明, 本方法回收率良好, 符合定量分析要求。

表 1 栀子苷回收率(n = 6)

称样量 /mL	栀子苷 含量 /mg	栀子苷加 入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回 收率 /%	RSD /%
0.4	0.226	0.212	0.437	99.53	99.41	0.24
0.4	0.226	0.212	0.436	99.06		
0.5	0.282	0.26	0.541	99.62		
0.5	0.282	0.26	0.54	99.23		
0.6	0.338	0.318	0.655	99.69		
0.6	0.338	0.318	0.654	99.37		

表 2 甘草苷回收率测(n = 6)

称样量 /mL	栀子苷 含量 /%	栀子苷加 入量 /%	测得量 /mg	回收率 /mg	平均回 收率 /mg	RSD /mg
0.4	0.034	0.036	0.069	97.22	98.49	1.23
0.4	0.034	0.036	0.070	100.00		
0.5	0.042	0.045	0.086	97.78		
0.5	0.042	0.045	0.086	97.78		
0.6	0.050	0.054	0.103	98.15		
0.6	0.050	0.054	0.104	100.00		

表 3 柚皮苷回收率(n = 6)

称样量 /mL	柚皮苷 含量 /mg	柚皮苷加 入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回 收率 /%	RSD /%
0.4	0.099	0.088	0.186	98.86	99.41	0.48
0.4	0.099	0.088	0.187	100.00		
0.5	0.124	0.11	0.233	99.09		
0.5	0.124	0.11	0.234	100.00		
0.6	0.149	0.132	0.280	99.24		
0.6	0.149	0.132	0.280	99.24		

2.11 样品含量测定 按上述含量测定方法, 测定

了本品 3 批样品中的栀子苷、甘草苷、柚皮苷含量, 结果见表 4。

表 4 中药退黄外洗液样品测定(n = 3) mg · mL⁻¹

批号	栀子苷	甘草苷	柚皮苷
090518	0.501	0.076	0.235
090901	0.547	0.078	0.259
091009	0.564	0.084	0.248

3 讨论

3.1 检测波长的选择 参考《中国药典》2005 年版一部栀子^[4]检测, 分别选定 238 nm 作为栀子苷的检测波长, 经紫外扫描甘草苷、柚皮苷均在 280 nm 有较大的吸收, 因此为了测量更准确, 检测灵敏度更高, 选用双波长测定。 本方法 0 ~13 min 检测波长为 238 nm, 13 ~30 min 检测波长为 280 nm。

3.2 流动相的选择 本方法考察了流动相甲醇-水(20 80)、甲醇-水(30 70)、甲醇-水(40 60) 洗脱条件下对样品中栀子苷、甘草苷、柚皮苷分离度的影响, 结果发现采用甲醇-水(40 60) 洗脱时, 样品中的栀子苷、柚皮苷能得到较好的分离, 峰形良好, 且流动相配制简单, 效率较高, 故采用甲醇-水(40 60) 作为流动相。

[参考文献]

[1] 黄仕孙, 王艳宁, 高桂娥, 等. 中药退黄外洗液质量标准中薄层鉴别的探讨[J] . 云南中医中药杂志, 2009, 30(8): 46.

[2] 唐光明, 陈学松, 刘慧妍. HPLC 法测定中药退黄外洗液质量标准中栀子苷的含量[J] . 中国当代医药, 2009, 16(14): 137.

[3] 林冬杰. 中药退黄外洗液中大黄酸含量测定[J] . 中国当代医药, 2009, 2(4): 43.

[4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S] . 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 173.

[责任编辑 顾雪竹]