

高效液相色谱法同时测定茵栀黄颗粒中4种成分

叶其旺

庆元县中医院药剂科, 浙江 庆元 323800

[摘要] 目的: 建立方法, 同时测定茵栀黄颗粒中绿原酸、栀子苷、金丝桃苷和黄芩苷的含量。方法: 选用 Kromasil C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm) 柱; 以乙腈-0.1%甲酸水溶液 (37:63) 为流动相; 流速为 1.0 mL/min; 柱温为 35℃; 检测波长程序: 0~7.5 min 为 350 nm (绿原酸)、7.5~14 min 为 238 nm (栀子苷)、14~20 min 为 360 nm (金丝桃苷)、20~25 min 为 280 nm (黄芩苷)。结果: 绿原酸、栀子苷、金丝桃苷和黄芩苷均具有良好的线性关系, 线性范围分别为: 0.3424~5.136 μg、0.276~4.14 μg、0.184~2.76 μg、2.48~37.2 μg; 4种成分的平均加样回收率分别为 98.1% (RSD=0.71%)、98.1% (RSD=1.07%)、98.0% (RSD=1.14%)、97.6% (RSD=0.95%)。结论: 本含量测定方法准确高效, 简便快速, 适用于茵栀黄颗粒的质量评价。

[关键词] 茵栀黄颗粒; 绿原酸; 栀子苷; 金丝桃苷; 黄芩苷; 高效液相色谱法 (HPLC)

[中图分类号] R284 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2015) 09-0206-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2015.09.096

茵栀黄颗粒是由茵陈提取物、栀子提取物、黄芩提取物和金银花提取物为主要原料制成的颗粒, 具有清热解毒、利湿退黄等功效, 常用于肝胆湿热所致的黄疸, 对新生儿生理性和病理性黄疸具有较好的疗效^[1-2]。茵栀黄颗粒多以黄芩苷和栀子苷的含量作为评价指标, 略有不足, 因此, 为更全面评价产品质量, 本试验建立方法, 对制剂中的绿原酸、栀子苷、金丝桃苷和黄芩苷进行同时测定。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 安捷伦 1260 型高效液相色谱仪; 检测器 G1314B; 四元泵 G1311C; 柱温箱 G1316A; 工作站 G2170BA; AB265-S 电子分析天平 (梅特勒); Millipore Simplicity 型超纯水器 (Millipore); KQ-250E 型超声波清洗器 (江苏昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试剂 对照品绿原酸 (110753-201415)、栀子苷 (110749-201316)、金丝桃苷 (111521-201406) 和黄芩苷 (110715-201318) 购自中国食品药品检定研究院 (供含量测定用); 色谱纯乙腈、甲酸, 分析纯甲醇购自国药集团化学试剂公司, 水为超纯水; 茵栀黄颗粒 (鲁南厚普制药有限公司, 批号: 00914055、00914056、00914057)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[3-5] 色谱柱: Kromasil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 柱; 流动相: 乙腈-0.1%甲酸水溶液 (37:63); 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 35℃; 检测波长程序: 0~7.5 min 为 350 nm (绿原酸)、7.5~14 min 为 238 nm (栀子苷)、14~20 min 为

360 nm (金丝桃苷)、20~25 min 为 280 nm (黄芩苷)。

2.2 溶液的配制

2.2.1 混合对照品溶液 分别取绿原酸、栀子苷、金丝桃苷、黄芩苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇溶解并制成浓度分别为: 绿原酸 0.1712 mg/mL、栀子苷 0.138 mg/mL、金丝桃苷 0.092 mg/mL、黄芩苷 1.24 mg/mL 的混合溶液, 即得。

2.2.2 供试品溶液^[6] 取茵栀黄颗粒约 1.0 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 密塞, 称定重量, 超声 30 min, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.3 阴性对照溶液 依照处方及工艺, 自行分别制备不含金银花提取物, 不含黄芩提取物, 不含茵陈和金银花提取物的阴性样品, 按 2.2.2 项下方法制备, 即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 系统适应性试验 取上述混合对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液, 按 2.1 项下色谱条件进行测定, 采集色谱图, 结果见图 1~5。供试品溶液色谱图中, 绿原酸、栀子苷、金丝桃苷、黄芩苷的保留时间与相应对照品溶液色谱图一致, 阴性对照溶液在相应对照品出峰位置上无干扰。

2.3.2 线性考察 取 2.2.1 项下对照品溶液, 分别进样 2、4、8、15、20、30 μL, 按 2.1 项下色谱条件进行测定, 分别记录峰面积。以峰面积 (Y) 对进样量 (μg) 进行线性回归, 绿原酸、栀子苷、金丝桃苷和黄芩苷的回归方程分别为: $Y=6.22 \times 10^6 X + 1.95 \times 10^4$, $r=0.9997$; $Y=4.35 \times 10^6 X + 3.61 \times 10^3$, $r=$

[收稿日期] 2015-05-16

[作者简介] 叶其旺 (1968-), 男, 主管药师, 主要从事临床药学工作。

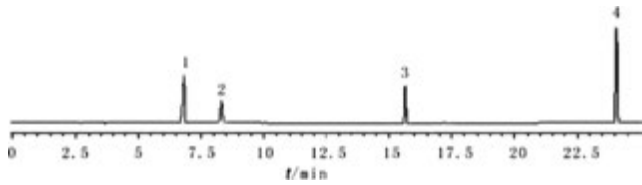


图1 对照品溶液色谱图

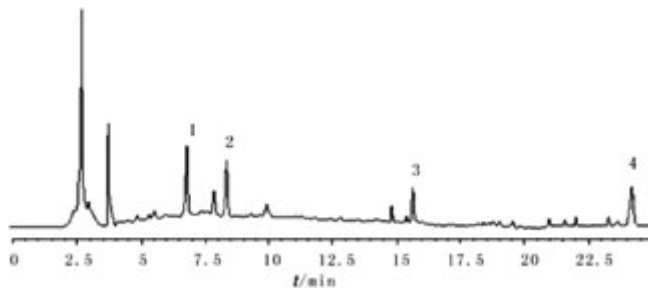


图2 供试品溶液色谱图

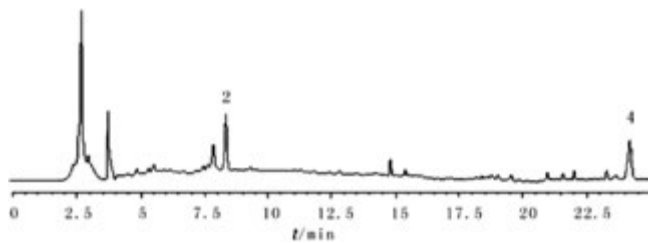


图3 金银花、茵陈提取物阴性对照图谱

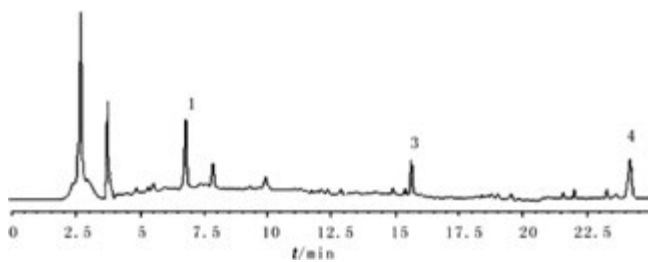


图4 栀子提取物阴性对照图谱

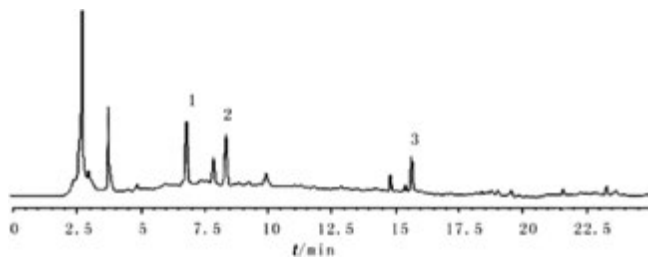


图5 黄芩提取物阴性对照图谱

1. 绿原酸；2. 栀子苷；3. 金丝桃苷；4. 黄芩苷

0.9998； $Y=5.08 \times 10^6 X + 3.43 \times 10^3$ ， $r=0.9998$ ； $Y=3.88 \times 10^6 X + 3.69 \times 10^3$ ， $r=0.9998$ 。结果表明，绿原酸、栀子苷、金丝桃苷和黄芩苷分别在0.3424~5.136 μg 、0.276~4.14 μg 、0.184~2.76 μg 、2.48~37.2 μg 范围内线性关系良好。

2.3.3 精密度试验 取2.2.1项下对照品溶液，按2.1项下色谱条件连续测定6次，记录峰面积。结果绿原酸、栀子苷、金丝桃苷和黄芩苷峰面积RSD分别为1.62%、1.84%、1.33%、1.51%，结果表明仪器具有较好的精密度。

2.3.4 重复性试验 取茵栀黄颗粒，按2.2.2项下方法平行制备供试品溶液6份，按2.1项下色谱条件进行测定，计算含量和RSD。结果绿原酸、栀子苷、金丝桃苷和黄芩苷的平均含量分别为4.25 mg/g(RSD=2.04%)、3.47 mg/g(RSD=2.33%)、2.32 mg/g(RSD=1.94%)、30.2 mg/g(RSD=1.76%)，结果表明本测定方法具有较好的重复性。

2.3.5 加样回收率试验 见表1。取茵栀黄颗粒6份，各约0.5 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，分别精密加入对照品溶液(绿原酸0.2128 mg/mL、栀子苷0.1731 mg/mL、金丝桃苷0.1165 mg/mL、黄芩苷1.5073 mg/mL)10 mL和甲醇15 mL，密塞，称定重量，其余操作按2.2.2项下方法进行，制得供试品溶液，按2.1项下色谱条件进行测定，计算加样回收率。

表1 加样回收率试验结果

成分	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
绿原酸	2.1310	2.128	4.2109	97.74	98.1	0.71
	2.1169	2.128	4.2098	98.35		
	2.1535	2.128	4.2615	99.06		
	2.1046	2.128	4.1775	97.41		
	2.1671	2.128	4.2638	98.53		
	2.1369	2.128	4.2072	97.29		
栀子苷	1.7399	1.731	3.4297	97.62	98.1	1.07
	1.7284	1.731	3.4334	98.50		
	1.7582	1.731	3.4844	99.72		
	1.7183	1.731	3.4000	97.15		
	1.7694	1.731	3.4784	98.73		
	1.7447	1.731	3.4241	97.02		
金丝桃苷	1.1632	1.165	2.3049	98.00	98.0	1.14
	1.1556	1.165	2.3047	98.64		
	1.1755	1.165	2.3343	99.47		
	1.1489	1.165	2.2739	96.57		
	1.1830	1.165	2.3299	98.45		
	1.1665	1.165	2.2946	96.83		
黄芩苷	15.1423	15.073	29.8324	97.46	97.6	0.95
	15.0426	15.073	29.8217	98.05		
	15.3023	15.073	30.2171	98.95		
	14.9550	15.073	29.4794	96.36		
	15.3990	15.073	30.1524	97.88		
	15.1846	15.073	29.7782	96.82		

2.4 样品含量测定 见表2。取茵栀黄颗粒，按2.2.2项下方法制备供试品溶液，按2.1项下色谱条件进行测定，计算绿原

酸、栀子苷、金丝桃苷和黄芩苷的含量。结果 4 种成分的平均含量分别为 4.14 mg/g、3.66 mg/g、2.18 mg/g、33.47 mg/g。

表 2 含量测定结果 mg/g

批号	绿原酸	栀子苷	金丝桃苷	黄芩苷
00914055	4.25	3.47	2.32	30.2
00914056	4.03	3.88	2.19	35.5
00914057	4.14	3.64	2.03	34.7

3 讨论

茵栀黄颗粒含有 4 种提取物：茵陈提取物、栀子提取物、黄芩提取物、金银花提取物，原质量标准测定黄芩苷和栀子苷，仅对黄芩提取物和栀子提取物进行质量控制，本试验在此基础上，又选取了绿原酸和金丝桃苷，对金银花提取物和茵陈提取物进行质量控制，力求更全面评价制剂的质量。

为提高分析效率，本试验对 4 种成分进行了同时测定，鉴于 4 种成分的最大吸收波长不同，为提高检测的准确性和灵敏度，本试验采用可变波长程序，实现了在最大波长处对 4 种成分进行检测。因此本试验所建立的含量测定方法具有准确高效，简便快速的特点。

[参考文献]

- [1] 朱明锦, 夏伟, 徐之也, 等. 茵栀黄颗粒治疗新生儿病理性黄疸系统评价[J]. 辽宁中医药大学学报, 2013, 15(1): 125-127.
- [2] 胡晓红, 朱慧华, 应佳佳, 等. 茵栀黄颗粒对新生儿病理性黄疸应用效果回顾性分析[J]. 中华中医药学刊, 2014, 32(3): 673-674.
- [3] 何雅君, 苏娟, 杨茜, 等. HPLC 同时测定山楂提取物中绿原酸和牡荆素鼠李糖苷的含量[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(6): 829-831.
- [4] 卞婷婷, 安益强, 汤道权, 等. HPLC 法同时测定双黄连冻干粉中 11 个成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(1): 52-56.
- [5] 师永清, 师永花. HPLC 同时测定牛黄清胃丸中栀子苷和黄芩苷[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(11): 86-88.
- [6] 席文胜, 张艳玲. 二元梯度洗脱反相高效液相色谱法测定茵栀黄颗粒中栀子苷的含量[J]. 辽宁中医药大学学报, 2009, 11(2): 148-149.

(责任编辑: 刘淑婷)

采用 Caco-2 细胞培养模型及大鼠在体肠灌流模型研究分析淫羊藿炮制的意义

谢斌

绍兴市柯桥区中医医院药剂科, 浙江 绍兴 312030

[摘要] 目的: 采用 Caco-2 细胞培养模型及大鼠在体肠灌流模型研究分析淫羊藿炮制的意义。方法: 建立 Caco-2 模型及大鼠在体肠灌流模型, 分别统计淫羊藿中含有的 5 种黄酮化合物的吸收转运情况及在肠道代谢中的吸收情况。结果: 分别观察淫羊藿炮制品中的 5 种黄酮化合物在 Caco-2 模型中的吸收转运情况, 其中宝藿苷 吸收渗透参数>淫羊藿苷>朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C。建立大鼠在体肠灌流模型, 分别观察淫羊藿炮制品中的 5 种黄酮化合物在大鼠在体肠灌流模型中各肠段吸收转运情况。在十二指肠段和空肠段, 淫羊藿苷渗透参数明显高于其他黄酮化合物; 在回肠段和结肠段, 宝藿苷渗透参数最高。结论: 适当的炮制可脱去淫羊藿黄酮的糖基, 有助于淫羊藿的吸收。

[关键词] 淫羊藿; 炮制; Caco-2 细胞; 大鼠在体肠灌流模型

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2015) 09-0208-02

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2015.09.097

淫羊藿是一种药用植物, 以羊脂油为最常见的炮制方法^[1]。关于淫羊藿炮制机理研究, 主要分为化学成分以及药理作用两

方面, 但是由于未能深入以及全面体现其药物的炮制机理, 导致炮制前后药物的成分以及吸收等研究较少^[2-3]。淫羊藿主要

[收稿日期] 2015-02-27

[作者简介] 谢斌 (1983-), 男, 主管中药师, 研究方向: 中药临床药学。