

HPLC 法测定叶下珠胶囊中诃里拉京的含量

董媛¹, 明全忠¹, 李忠琼¹, 张颖君²

(1. 云南省食品药品检验所, 昆明 650011; 2. 昆明植物研究所, 昆明 650011)

摘要 目的:建立高效液相色谱法分离和测定叶下珠胶囊中诃里拉京。**方法:**采用 Alltech C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 以乙腈 - 0.2% 磷酸溶液 (7.5:92.5) 为流动相, 流速为 1.0 mL · min⁻¹, 柱温为 25 °C, 检测波长为 216 nm。以外标法测定了叶下珠胶囊中诃里拉京的含量。**结果:**诃里拉京在 0.08 ~ 20.49 μg ($r=0.9999$) 的范围内呈现出良好的线性关系, 诃里拉京的平均回收率 ($n=9$) 为 98.8%, RSD 为 0.8%。**结论:**本方法简便易行, 结果准确可靠, 可用于叶下珠胶囊的质量控制。

关键词:叶下珠胶囊; 诃里拉京; 高效液相色谱

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0254 - 1793(2007)12 - 1911 - 02

HPLC determination of corilagin in Yexiazhu capsules

DONG Yuan¹, MING Quan - zhong¹, LI Zhong - qiong¹, ZHANG Ying - jun²

(1. Yunnan Institute for Drug Control, Kunming 650011, China; 2. Kunming Institute for Plant Study, Kunming 650011, China)

Abstract Objective: To establish a method for the determination of corilagin in Yexiazhu capsules by HPLC.

Methods: The chromatographic conditions were as follows: Alltech C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with the mobile phase of acetonitrile - 0.2% phosphoric acid (7.5:92.5) at the flow rate of 1.0 mL · min⁻¹ and UV detection wavelength was at 216 nm, column temperature was 25 °C. **Results:** The calibration curve was linear in the range of 0.08 - 20.49 μg for corilagin ($r=0.9999$). The average recovery was 98.8% ($n=9$), RSD was 0.8%.

Conclusion: The method is accurate and reliable for the quality control of this preparation.

Key words: Yexiazhu capsule; corilagin; HPLC

叶下珠胶囊为单味药制剂, 具有平肝健脾、清热利湿的作用, 用于急慢性病毒性肝炎、慢性活动性肝炎等引起的脘闷腹胀、肋痛、纳差、恶心、便溏、神倦乏力等症状, 在治疗乙型肝炎等疾病中发挥着重要作用。经体外实验证明其所含的诃里拉京对乙肝病毒具有良好的抑制作用^[1], 为其有效成分。原质量标准^[2]中仅有以指标性成分没食子酸作为定性及定量指标, 尚缺乏以有效成分作为质量控制指标。国家标准叶下珠系列产品中亦未见以诃里拉京作为质量控制指标。为了达到量效结合, 控制其有效成分的含量, 现建立了测定制剂中具有活性有效成分诃里拉京的高效液相色谱法。本法分离良好, 结果准确可靠, 为控制叶下珠胶囊的质量提供了依据。

1 仪器与试剂

HP - 1100 型液相色谱仪 (Agilent 公司), 包括 HP - 1100 型系列四元泵, VWD 型紫外可变波长检测器, G1313A 型自动进样器, 在线真空脱气机, 智

能化柱温箱及 HP 化学工作站。诃里拉京对照品: 由昆明植物研究所提供 (英文名: Corilagin; 鉴定依据: 比旋度、紫外光谱、质谱、氢谱、炭谱; 纯度检查方法: 高效液相色谱法; 纯度大于 98%); 叶下珠胶囊: 由昆明四创药业有限公司提供。流动相中乙腈为色谱纯, 水为超纯水; 其余溶剂均为分析纯。

2 色谱条件

色谱柱: Alltech C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈 - 0.2% 磷酸溶液 (7.5:92.5), 流速: 1.0 mL · min⁻¹, UV 检测波长: 216 nm, 柱温: 25 °C。

3 溶液制备

3.1 对照品溶液 精密称取诃里拉京对照品 10.60 mg, 置 250 mL 量瓶中, 加 30% 甲醇溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 即得 0.0424 mg · mL⁻¹ 的对照品溶液 A。另精密称取诃里拉京对照品 20.49 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加 30% 甲醇溶解, 并稀释至刻度, 摇

匀, 即得 $0.8196 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液 B。

3.2 供试品溶液 取本品 10 粒内容物, 研细, 混匀, 取细粉约 0.1 g, 精密称定, 置锥形瓶中, 精密加入 30% 甲醇 50 mL, 称定重量, 水浴回流提取 30 min, 放冷, 用 30% 甲醇补足减失重量, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

4 系统适应性试验

分别取对照品溶液、供试品溶液各 10 μL 注入色谱仪, 记录色谱图(图 1), 峰 1 与其他组分峰的分度大于 1.5, 峰 1 保留时间约为 42 min, 其他组分不干扰峰 1 的测定。

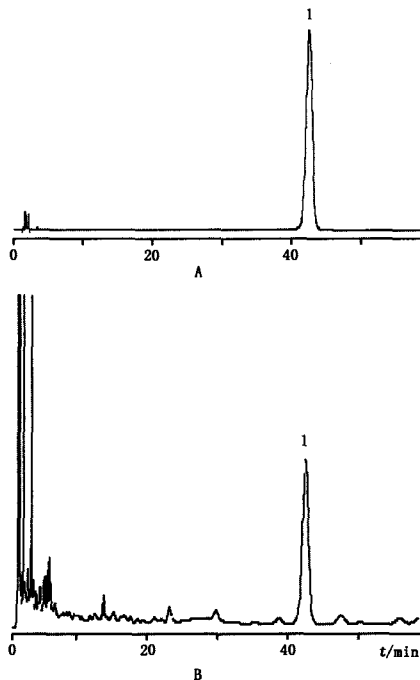


图 1 河里拉京(A)、叶下珠胶囊(B)色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of corilagin(A), Yexiazhu capsules(B)

1. 河里拉京(corilagin)

5 线性关系的考察

取对照品溶液 A 2, 10, 15, 20, 25 μL 和对照品溶液 B 15, 20, 25 μL 进样, 记录色谱图, 以峰面积 A 对进样量 Q 进行回归处理, 河里拉京在 0.08 ~ 20.49 μg 范围内呈现出良好的线性关系, 回归方程为

$$A = 4.0 \times 10^3 Q + 4.6 \times 10^2 \quad r = 0.9999.$$

6 精密度和稳定性试验

取同一对照品溶液, 重复进样 5 次, 按上述色谱条件测定峰面积, 平均峰面积积分为 1925.4, RSD = 0.1%。

取同一供试品溶液, 按上述色谱条件测定 6 次,

每次 10 μL , 每次间隔约 1.5 h, 测定峰面积积分值, RSD = 1.41%, 表明供试品溶液在 7.5 h 内稳定。

7 重复性试验

取同一叶下珠胶囊, 按“3.2”项下方法制备供试品溶液, 按上述色谱条件测定含量, 测定结果的平均含量为 $4.05 \text{ mg} \cdot \text{粒}^{-1}$, RSD 为 0.9% ($n=6$)。

8 回收率试验

精密量取对照品溶液 B 0.8, 0.8, 0.8, 1.0, 1.0, 1.0, 1.2, 1.2, 1.2 mL 分置 9 个锥形瓶中, 水浴蒸干; 精密称取 9 份已知含量(河里拉京含量为 $16.22 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) 的样品粉末 0.05 g, 依次加入上述 9 个锥形瓶中, 精密加入 30% 甲醇 50 mL, 按“3.2”项下方法操作, 按上述色谱条件测定, 计算回收率。得平均回收率为 98.8%, RSD = 0.8% ($n=9$)。

9 样品的测定

分别取 10 个批号的样品进行测定。得平均含量为 $4.1 \text{ mg} \cdot \text{粒}^{-1}$, RSD = 0.8% ($n=10$)。

10 讨论

10.1 试验中以河里拉京为指标, 对提取的方法, 回流提取中甲醇的浓度、提取的时间 3 个因素进行了考察。当用 30% 甲醇超声处理及水浴回流 30 min 时, 含量分别为 15.32, 16.45 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$; 当用甲醇、50% 甲醇、30% 甲醇水浴回流 30 min 时, 含量分别为 10.31, 16.20, 16.30 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$; 当用 30% 甲醇水浴回流 10, 20, 30, 40, 50, 60 min 时, 含量分别为 15.50, 15.37, 16.30, 16.20, 16.29, 16.30 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。结果表明叶下珠胶囊中河里拉京的最佳提取条件为 30% 甲醇, 水浴回流提取 30 min。

10.2 在确定检测波长时, 以流动相配制的对照品溶液, 测定其紫外吸收, 其最大吸收波长为 216 nm, 其中在 268 nm 也有较大吸收。试验中也曾以 268 nm 波长进行测定, 与 216 nm 波长比较其峰形相似但峰面积降低。故确定 216 nm 波长为检测波长。

参考文献

- ZHONG Ying(仲英), ZUO Chun-xu(左春旭), LI Feng-qin(李凤琴), et al. Studies on chemical components and antiviral activities of *Phyllanthus urinaria* L. (叶下珠化学成分及其抗病毒活性的研究). *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志). 1998, 23(6): 363
- Drug Specifications Promulgated by the State Drug Administration(国家药品监督管理局国家药品标准). WS-11435(ZD-1435)-2002

(本文于 2007 年 2 月 21 日修改回)