

獐牙菜属植物藏茵陈及其制剂中雏菊叶龙胆酮的测定 高效液相色谱法

（征求意见稿）

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

青海省标准化协会 发 布

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国科学院西北高原生物研究所提出。

本文件由青海省标准化协会归口。

本文件起草单位：中国科学院西北高原生物研究所、中国科学院新疆理化技术研究所、西宁海关技术中心、青海省药品检验检测院、东营市工业产品检验与计量检定中心、淮安市食品药品检验所。

本文件主要起草人：汪园、李玉林、谭亮、陈涛、王环、马家麟、杨丽、丁成丽、薛宾、焦兴革、贾静、王萍。

獐牙菜属植物藏茵陈及其制剂中雏菊叶龙胆酮的测定

高效液相色谱法

1 范围

本文件描述了獐牙菜属植物藏茵陈及其制剂中雏菊叶龙胆酮含量测定的高效液相色谱法。

本文件适用于獐牙菜属植物藏茵陈包括抱茎獐牙菜、川西獐牙菜和印度獐牙菜等及其制剂（藏茵陈胶囊、藏茵陈片）中雏菊叶龙胆酮的测定，其他药材及制剂可参照执行。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和实验方法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

抱茎獐牙菜 *Swertia franchetiana* Harry Sm.

是龙胆科（Gentianaceae）獐牙菜属（*Swertia* L.）一年生草本植物。

3.2

川西獐牙菜 *Swertia mussotii* Franch.

是龙胆科（Gentianaceae）獐牙菜属（*Swertia* L.）一年生草本植物。

3.3

印度獐牙菜 *Swertia speciosa* D. Don

是龙胆科（Gentianaceae）獐牙菜属（*Swertia* L.）植物。

4 分子式和相对分子质量

雏菊叶龙胆酮 bellidifolin

分子式： $C_{15}H_{10}O_6$

分子量：274.23

5 原理

试样经 50%无水乙醇热回流提取后，用高效液相色谱法测定，以保留时间定性，外标法定量。

6 试剂和材料

6.1 试剂

6.1.1 无水乙醇 (C_2H_6O)：色谱纯。

6.1.2 甲醇 (CH_3OH)：色谱纯。

6.1.3 甲酸 ($HCOOH$)：色谱纯。

6.1.4 二甲基亚砜 (DMSO)：色谱纯。

6.1.5 雏菊叶龙胆酮对照品：CAS 号 2798-25-6，纯度不低于 98%。

注：除非另有规定，使用试剂均为分析纯。水为 GB/T 6682 中规定的一级水。

6.2 试剂配制

6.2.1 乙醇溶液 (50%) 的配制

量取无水乙醇 (5.1.1) 500 mL 于 1000 mL 容量瓶中，以水稀释至刻度，摇匀。

6.2.2 甲酸溶液 (0.2%) 配制

量取甲酸 (5.1.3) 2 mL 于 1000 mL 容量瓶中，以水稀释至刻度，摇匀。

6.2.3 雏菊叶龙胆酮对照品储备液 (1.00 mg/mL)

精密称取雏菊叶龙胆酮对照品 50 mg (精确至 0.01 mg) 于 50 mL 容量瓶中，加入 25 mL DMSO (5.1.4) 使之溶解，再用甲醇 (5.1.2) 稀释并定容，混匀。于 4 °C 下，贮存于棕色样品瓶中，保存有效期为 1 个月。

6.2.4 雏菊叶龙胆酮标准系列溶液

准确移取适量的雏菊叶龙胆酮对照品储备液 (5.2.3)，分别于 10 mL 容量瓶中，用甲醇 (5.1.2) 稀释并定容，混匀，配制成质量浓度分别为 1 $\mu\text{g/mL}$ 、5 $\mu\text{g/mL}$ 、10 $\mu\text{g/mL}$ 、25 $\mu\text{g/mL}$ 、50 $\mu\text{g/mL}$ 、100 $\mu\text{g/mL}$ 、250 $\mu\text{g/mL}$ 、500 $\mu\text{g/mL}$ 标准系列溶液，根据仪器性能和检测需要选择不少于 6 个浓度点，供液相色谱仪测定。临用现配。

注：也可根据检测需要配制其他适宜的质量浓度。

7 仪器和设备

7.1 高效液相色谱仪：配有紫外检测器或二极管矩阵检测器。

7.2 分析天平：感量 0.01 mg、0.1mg 和 0.001g。

7.3 回流装置：具塞锥形瓶和冷凝管。

7.4 恒温水浴锅：控温精度 $\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

7.5 粉碎机：可将样品粉碎并通过 $250\text{ }\mu\text{m} \pm 9.9\text{ }\mu\text{m}$ (65 目) 筛。

7.6 微孔滤膜：孔径 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ ，有机系。

8 分析步骤

8.1 试样制备

8.1.1 药材：除去可见杂质后，取有代表性试样 50 g ~ 100 g，用药材粉碎机粉碎后，过 65 目筛，混匀，装入密闭容器中，阴凉干燥处保存。

8.1.2 片剂：取不少于 20 粒或不少于 5g 样品，经高速粉碎机或研钵磨成粉状，混匀，装入密闭容器中，阴凉干燥处保存。

8.1.3 胶囊：取不少于 20 粒或不少于 5g 样品，取其内容物，混匀，必要时研细，装入密闭容器中，阴凉干燥处保存。

8.2 试样溶液的制备

平行做两份试验。称取试样 0.5 g（精确至 0.1 mg），置于 150 mL 具塞锥形瓶中，精密加入乙醇溶液（5.2.1）20 mL，密塞，称定重量，置水浴中加热回流 60 min，不时振荡，防止试样黏附在瓶壁上，放冷，再称定重量，用乙醇溶液（5.2.1）补足减失的重量，摇匀，过 0.45 μm 微孔滤膜，上机测定。

8.3 测定

8.3.1 液相色谱参考条件

8.3.1.1 色谱柱：C18 柱，长 250 mm，内径 4.6 mm，粒径 5 μm ，或性能相当者。

8.3.1.2 流动相：A 相为 0.2% 甲酸溶液（5.2.2），B 相为甲醇（5.1.2），梯度洗脱程序见表 1。

8.3.1.3 流速：1.0 mL/min。

8.3.1.4 柱温：30 $^{\circ}\text{C}$ 。

8.3.1.5 检测波长：253 nm。

8.3.1.6 进样体积：10 μL 。

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	A相/%	B相/%
0	40	60
10	40	60
30	25	75

8.3.2 标准系列溶液和试样溶液测定

在仪器的最佳条件下，分别取雏菊叶龙胆酮标准系列溶液（5.2.4）和试样溶液（7.2）上机测定。雏菊叶龙胆酮的液相色谱图见附录 A 中图 A.1。

8.3.3 定性

以保留时间定性，试样溶液中雏菊叶龙胆酮色谱峰的保留时间应与质量浓度相当的标准系列溶液中雏菊叶龙胆酮色谱峰的保留时间一致，其相对偏差应在 $\pm 2.5\%$ 之内。

8.3.4 定量

以雏菊叶龙胆酮的质量浓度为横坐标，以色谱峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，其相关系数应不低于 0.99。试样溶液中雏菊叶龙胆酮的质量浓度应在标准曲线的线性范围内，若超出线性范围，应将试样溶液用乙醇溶液（5.2.1）稀释后，重新测定。

9 数据处理

试样中雏菊叶龙胆酮的含量以质量分数 ω 计，数值以 g/100g 表示。按公式（1）计算，测定结果以平行测定的算术平均值表示，保留 3 位有效数字：

$$\omega = \frac{\rho \times V}{m \times 10\,000} \times n \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中：

ρ ——从标准曲线得到的试样溶液中雏菊叶龙胆酮质量浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

V ——试样溶液（7.2）的定容体积，单位为毫升（mL）；

10 000 ——换算稀释；

n ——超出标准曲线范围后的稀释倍数；

m ——试样质量，单位为克（g）。

10 精密度

在重复条件下，获得的两次独立测定结果的绝对差值不超过算术平均值的 10%。

11 检出限和定量限

本方法雏菊叶龙胆酮的检出限为 0.001 g/100g；定量限为 0.003 g/100g。

附录 A

(资料性)

雏菊叶龙胆酮标准溶液液相色谱图

雏菊叶龙胆酮标准溶液色谱图见图 A.1。

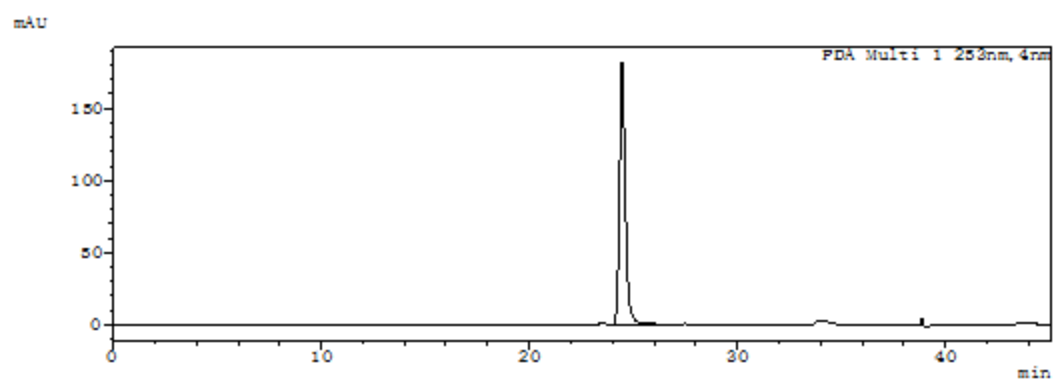


图 A.1 雏菊叶龙胆酮标准溶液色谱图