

高效液相色谱法测定梔丹安神颗粒中梔子苷

廖艳华¹, 韩锋², 马莉^{2*}, 高静²

1. 云南生物谷药业股份有限公司, 云南 昆明 650224

2. 天津药物研究院, 天津 300193

摘要:目的 建立测定梔丹安神颗粒中梔子苷的高效液相色谱方法。方法 采用 Phenomenex ODS(3) 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(27:73); 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长: 240 nm; 进样量: 10 μL; 柱温: 35 °C。结果 梔子苷在 40.64~609.60 ng 与峰面积线性关系良好, 平均回收率为 97.74%, RSD 值为 1.09% (n=9)。结论 本方法操作简便、结果准确, 专属性强, 可用于梔丹安神颗粒中梔子苷的测定。

关键词: 梔丹安神颗粒; 梔子苷; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2013)02-0191-03

DOI:10.7501/j.issn.1674-5515.2013.02.022

Determination of geniposide in Zhidan Anshen Granule by HPLC

LIAO Yan-hua¹, HAN Feng², MA Li², GAO Jing²

1. Yunnan Biovalley Pharmaceutical Stock Co., Ltd., Kunming 650224, China

2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To establish an HPLC method for the determination of geniposide in Zhidan Anshen Granule. **Methods** Geniposide was determined on Phenomenex ODS (3) column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase was methanol-water (27 : 73) with the flow rate at 1.0 mL/min. The detection wavelength was 240 nm and the column temperature was 35 °C with injection volume of 10 μL. **Results** The linear range of geniposide was 40.64—609.60 ng ($r = 0.999 5$). The average recovery rate was 97.74% with RSD at 1.09% ($n = 9$). **Conclusion** The method is rapid, simple, and accurate, and could be used for the determination of geniposide in Zhidan Anshen Granule.

Key words: Zhidan Anshen Granule; geniposide; HPLC

梔丹安神颗粒是由梔子、丹皮、当归、白芍等多味中药组成的复方制剂, 具有清热凉血、滋阴清热的功效, 主要治疗失眠症。方中梔子为君药, 具有泻火除烦、清热利湿、凉血解毒的功效^[1], 其主要活性成分为梔子苷。现代药理研究表明梔子苷具有镇静、解热作用^[2]。为了有效地控制梔丹安神颗粒的质量, 本实验采用 HPLC 法测定方中梔子苷, 方法专属性强, 稳定性、重复性好, 结果可靠, 可用于该制剂的质量控制。

1 仪器与试剂

HP 1100 型高效液相色谱仪; Sartorius BT 25S

电子天平。

梔子苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110749-200714); 梔丹安神颗粒由天津药物研究院中药现代部提供, 10 g/袋, 批号 121001、121002、121003。甲醇为色谱纯, 水为纯净水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Phenomenex ODS (3) 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(27:73); 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长: 240 nm; 进样量: 10 μL; 柱温: 35 °C。理论塔板数按梔子苷峰计算

收稿日期: 2012-12-11

作者简介: 廖艳华(1977—), 女, 云南昆明人, 理学学士, 工程师, 2001年7月毕业于云南中医学院制药工程系, 现就职于云南生物谷药业股份有限公司质量保证部, 主要从事质量标准研究。Tel: (0871)5016111-2505 E-mail: 374219929@qq.com

*通信作者 马莉 Tel: (022)23006851 E-mail: 893915361@qq.com

不低于 8 000。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取栀子苷对照品 10.16 mg，置于 50 mL 量瓶中，用甲醇超声溶解并加至刻度，摇匀，即得 0.203 2 mg/mL 对照品储备溶液。精密量取 1 mL，置于 10 mL 量瓶中，用 70% 甲醇溶解并加至刻度，即得 20.32 μ g/mL 栀子苷对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

精密量取栀丹安神颗粒 0.5 g，置于 25 mL 量瓶中，加 70% 甲醇 20 mL 超声提取 30 min，取出，放

至室温，用 70% 甲醇溶解并加至刻度，摇匀，0.45 μ m 滤膜滤过，取续滤液，即得。

2.4 阴性溶液的制备

取不含栀子的阴性制剂，按供试品溶液的制备项下方法制成阴性溶液。

2.5 专属性试验

取栀子苷对照品溶液、栀丹安神颗粒供试品溶液和不含栀子的阴性溶液各 10 μ L，按上述色谱条件进样测定，色谱图见图 1。结果表明阴性对照对栀子苷的测定无干扰。

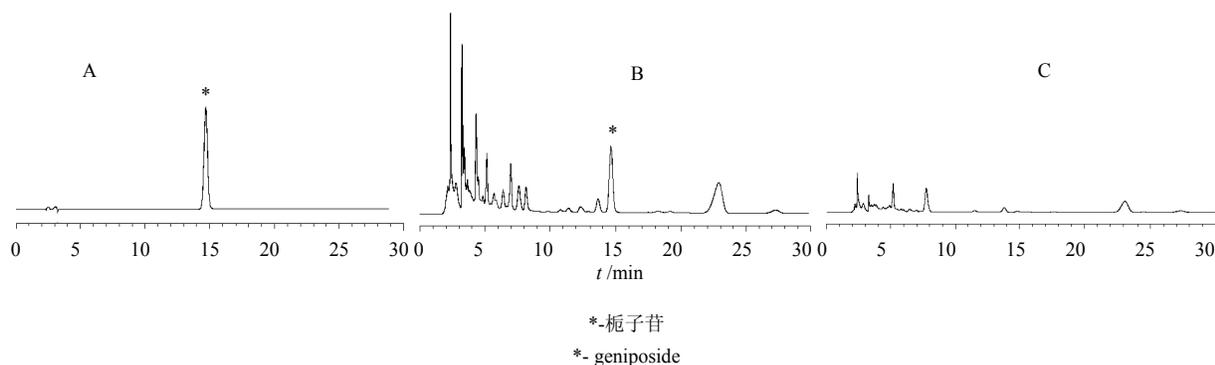


图 1 栀子苷对照品 (A)、栀丹安神颗粒供试品 (B) 和阴性对照 (C) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of geniposide reference substance (A), Zhidan Anshen Granule sample (B), and negative sample (C)

2.6 线性关系考察

分别精密吸取 0.203 2 mg/mL 栀子苷对照品储备液 0.2、0.5、1、2、3 mL，置 10 mL 量瓶中，分别加 70% 甲醇溶解并加至刻度，精密吸取 10 μ L 注入液相色谱仪。以栀子苷进样质量为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，拟合得回归方程 $Y=2\ 839.2\ X+9.670\ 2$ ($r=0.999\ 5$)。结果表明，栀子苷在 40.64~609.60 ng 时与峰面积的线性关系良好。

2.7 精密度试验

取批号 121001 栀丹安神颗粒样品，制备供试品溶液，精密吸取 10 μ L，重复进样 6 次，测定栀子苷峰面积。结果其 RSD 值为 0.99%。

2.8 稳定性试验

取批号 121001 栀丹安神颗粒样品，制备供试品溶液，分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样测定栀子苷峰面积。结果其 RSD 值为 0.94% ($n=6$)，表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.9 重复性试验

取批号 121001 栀丹安神颗粒样品 6 份，制备供试品溶液，进样测定，计算栀子苷的质量分数。结果栀子苷的平均质量分数为 0.806 mg/g，RSD 值为

1.06%。

2.10 加样回收率试验

分别称取含栀子苷 0.806 mg/g 的栀丹安神颗粒样品 (批号 121001) 9 份，每份 0.25 g，精密称定，分别精密加入 0.203 2 mg/mL 栀子苷对照品溶液 0.8、1、1.2 mL，制备供试品溶液，测定栀子苷质量分数，计算回收率，结果平均回收率为 97.74%，RSD 值为 1.09%。

2.11 样品测定

取批号 121001、121002、121003 栀丹安神颗粒，每批各平行 2 份，制备供试品溶液，进样测定，按标准曲线法计算样品中栀子苷的质量分数，结果批号 121001、121002、121003 样品中栀子苷的质量分数分别为 0.810、0.823、0.864 mg/g。

3 讨论

3.1 流动相的选择

文献中测定制剂中栀子苷的研究较多，采用的流动相种类复杂，主要包括乙腈-水、甲醇-水等不同体系^[3-4]。本实验通过比较不同流动相对测定的影响可以发现，采用甲醇-水 (27:73) 作为流动相，栀子苷的峰与杂质峰能较好的分离，其分离度

大于 1.5, 符合系统适应性的要求。

3.2 提取条件的选择

供试品溶液的制备方法参考文献报道^[5-7], 对提取溶剂(甲醇、70%甲醇、50%甲醇、95%乙醇、70%乙醇)、超声提取时间(20、30、40 min)进行对比考察, 结果显示采用 70%甲醇超声提取 30 min 即能将栀子苷完全提取出来, 且杂质含量低, 峰形好。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010: 231.
- [2] 黄仕孙, 吴曙粤. 栀子的现代药理研究及临床应用概述 [J]. 内科, 2010, 5(5): 534-536.
- [3] 韦金燕, 陆瑞勇. HPLC 法测定消肿止痛巴布膏中栀子苷的含量 [J]. 中国民族民间医药杂志, 2012, 21(10): 39-40.
- [4] 温 琰. 高效液相色谱法测定热毒平颗粒中栀子苷的含量 [J]. 中国现代药物应用, 2012, 6(18): 122-123.
- [5] 张 琼, 唐永红, 杨晓莉, 等. HPLC 法测定安坤片中栀子苷的含量 [J]. 西北药学杂志, 2012, 27(4): 314-315.
- [6] 陈根德, 吴德玲, 邢 蓉. HPLC 法测定金花消痤颗粒中栀子苷的含量 [J]. 安徽医药, 2012, 16(3): 318-319.
- [7] 万 军. 高效液相色谱法测定鼻渊舒颗粒中栀子苷的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(19): 78-80.