

## HPLC 法测定八正合剂中栀子苷的含量

喻贵英, 罗 伟, 刘伟霞, 杜沛佳, 杨洪英\*

(重庆桐君阁药厂 理化检验中心, 重庆 400066)

八正合剂是以八正散为基础, 选用道地药材, 精细加工而成的中药制剂。具有抗炎、解痉、镇痛、利尿、解热及增强免疫等功效。栀子为方中主药之一, 栀子苷为栀子中主要有效成分。为了有效地控制产品质量, 本实验参考文献<sup>[1,2]</sup>, 采用高效液相色谱法测定八正合剂中栀子苷的含量, 方法灵敏度高、专属性强、重现性好、结果准确。

### 1 仪器与试剂

Agilent HP1100 高效液相色谱仪, DAD 二极管阵列检测器(德国), 自动进样器, UV—2501PC

紫外可见分光光度计(岛津), TGL—16B 离心机; 乙腈为色谱纯, 水为重蒸水; 栀子苷对照品由中国药品生物制品检定所提供(批号: 0749-9605), 八正合剂由重庆桐君阁药厂提供。

### 2 实验部分

2.1 色谱条件: 色谱柱: Diamonsil™ C<sub>18</sub> 标(150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水(15:85); 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 25℃; 检测波长: 238 nm; 进样量: 10 μL, 色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液的配制: 取栀子苷对照品适量, 精

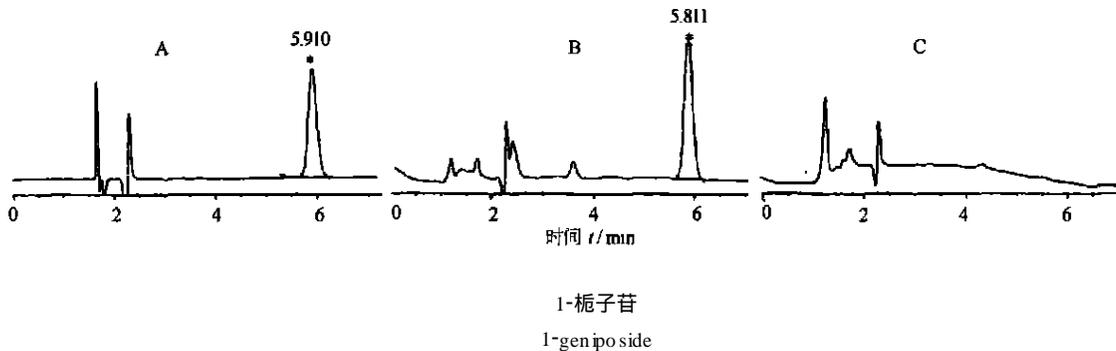


图 1 栀子苷对照品溶液(A)、八正合剂(B)和阴性对照(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of geniposide reference solution (A), BazhengM istura (B), and negative sample (C)

密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀得对照品储备液(0.2912 mg/mL)。精密量取对照品储备液 5 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀作为对照品溶液(29.12 μg/mL)。

2.3 测定波长的选择: 取栀子苷对照品溶液适量, 在 200~400 nm 波长进行扫描, 栀子苷在 238 nm 处有最大吸收, 而溶剂甲醇和流动相在此波长处无明显吸收, 故选择 238 nm 为检测波长。

2.4 标准曲线的制备: 取对照品溶液, 按上述色谱条件分别进样 1、2、4、6、8 μL, 并以峰面积  $Y$  为纵坐标, 进样量  $X$  为横坐标进行线性回归, 得回归方程:  $Y = 5.03 + 40.35X$ ,  $r = 0.9998$ 。结果表明, 栀子苷在 0.02912~0.23296 μg 与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验: 精密吸取栀子苷对照品溶液 2

4、8 μL 按上述色谱条件, 各连续进样 5 次, 测得 2 μL 峰面积的 RSD 为 0.99%; 4 μL 峰面积的 RSD 为 0.39%; 8 μL 峰面积的 RSD 为 0.16% ( $n = 5$ )。

2.6 重现性试验: 取样品, 精密量取 5 份, 按样品测定项下方法测定, 以栀子苷峰面积积分值计 RSD 为 0.68% ( $n = 5$ )。

2.7 稳定性试验: 精密吸取对照品溶液和供试品溶液, 每隔 2 h 测定一次, 连续测定 5 次, 在 8 h 内对照品溶液中栀子苷峰面积积分值的 RSD 为 0.45% ( $n = 5$ ); 供试品溶液中栀子苷峰面积积分值的 RSD 为 0.32% ( $n = 5$ )。

2.8 加样回收率试验: 吸取已测得栀子苷含量的 5 批样品各 1 mL, 每批 2 份, 分别精密加入 0.2912 mg/mL 栀子苷对照品贮备液各 1 mL, 按样品测定项下的方法, 照上述色谱条件进行测定, 计算。结果

\* 收稿日期: 2003-11-11

作者简介: 喻贵英(1974—), 女, 工程师, 从事药品检验及质量标准研究工作。Tel: (023) 89881274

平均回收率为 98.87%, RSD 为 1.25% (n=10)。

2.9 样品测定: 精密吸取样品 1 mL, 置于 100 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 弃去初滤液, 取续滤液 1 mL, 离心 10 min, 进样 10  $\mu$ L, 测定结果用回归方程计算其芍药苷的质量浓度, 结果见表 1。

表 1 八正合剂中芍药苷测定结果 (n=3)

Table 1 Geniposide in Bazheng Mixture (n=3)

批号	芍药苷/(mg·mL <sup>-1</sup> )	RSD/%
0208003	1.0267	1.12
0208004	1.3140	1.56
0208005	1.2743	0.87
0209001	1.2342	1.06
0211001	1.2641	0.95
0305001	1.0192	1.29
0305002	1.1036	0.90

### 3 讨论

3.1 芍药苷为水溶性的环烯醚萜类, 试验中分别以水和甲醇为溶剂, 结果显示, 用水做溶剂效果较好。

3.2 曾分别选用乙腈-水(10:90), 甲醇-水-冰醋酸, 乙腈-水(15:85)作为流动相, 结果以乙腈-水(15:85)为最佳, 芍药苷与相邻峰基线分离较好。

3.3 样品测定结果表明, 各批号间芍药苷含量存在一定差异, 为了有效地控制产品质量, 应该严格工艺条件, 并建议把成品质量控制为: 成品含芍药以芍药苷计不得少于 1.0 mg/mL。

### References

[1] ChP (中国药典) [S]. Vol I. 2000.  
 [2] Lu M P, Qiao Q B, Pang C Y, et al. Effect of macroporous resin in separation of gadenoside [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2002, 33(9): 794-796.

## HPLC 法测定抗震止痉灵胶囊中芍药苷的含量

时文霞, 孟 楣\*

(安徽中医学院第一附属医院 药学部, 安徽 合肥 230031)

抗震止痉灵胶囊为本院神经内科协定处方制剂, 由白芍、葛根、天麻等 10 味中药组成, 主要用于保护脑内多巴胺神经元, 对帕金森病的震颤、肌僵直有治疗作用。白芍为主药, 而芍药苷是芍药的主要活性成分。芍药苷可增加神经细胞存活数量, 降低死亡率, 对抗兴奋性氨基酸海藻酸所致的神经损伤<sup>[1]</sup>; 具有解痉、镇痛、镇静及改善学习记忆的作用<sup>[2]</sup>; 还能够抑制血小板聚集, 扩张动脉血管, 增加冠脉流量, 保护急性心肌缺血等<sup>[3]</sup>。因此芍药苷的含量可以作为控制该制剂的质量指标。本实验采用 HPLC 法测定抗震止痉灵胶囊中芍药苷的含量, 方法稳定、准确、重现性好、灵敏度高。

### 1 仪器与试剂

高效液相色谱仪: 包括 Waters 600 泵, 2487 双波长紫外检测器, Millennium 32 工作站; 芍药苷对照品(购自中国药品生物制品检定所, 批号: 0736-200117); 抗震止痉灵胶囊(本院制剂中心生产提供), 乙腈、甲醇为色谱纯, 水为双蒸水, 磷酸为分析纯。

### 2 方法与结果

2.1 色谱条件: Kromasil ODS C<sub>18</sub> 柱 (250 mm ×

4.6 mm, 5  $\mu$ m); 柱温: 室温; 流动相: 乙腈-水 (82:18, 用磷酸调 pH 4); 体积流量: 1.2 mL/min; 检测波长: 230 nm。

2.2 标准曲线的绘制: 精密称取芍药苷对照品 2.5 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶液使溶解, 并加至刻度, 摇匀即得 (0.1 mg/mL)。用甲醇依次稀释得到 50、60、70、80、88  $\mu$ g/mL 对照品溶液。在上述色谱条件下分别进样, 进样量为 20  $\mu$ L, 依次测定峰面积。以芍药苷质量浓度 (X) 对峰面积 (Y) 绘制标准曲线, 结果芍药苷进样量在 1.00~1.76  $\mu$ g 与峰面积呈线性相关, 线性方程为 Y=43.816X, r=0.999。

2.3 供试品溶液的制备: 精密称取抗震止痉灵胶囊内容物约 0.2 g, 置 10 mL 离心管中, 加甲醇约 3 mL 超声提取, 共 3 次, 每次 15 min, 离心 (3 000 r/min), 滤过, 合并滤液, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀即得。

2.4 空白试验: 取除白芍以外的各原药材, 按处方量制备胶囊, 照 2.3 项下方法制备空白对照溶液, 微孔滤膜 (0.45  $\mu$ m) 滤过, 进样。结果表明, 本实验条件下, 其他成分对芍药苷的测定无干扰。见图 1。

\* 收稿日期: 2004-02-16

作者简介: 时文霞 (1953—), 女, 副主任药师, 1974 年毕业于安徽医科大学药理学系, 主要从事制剂生产、研究及质量标准控制。