

# HPLC法测定丹栀逍遥散中栀子苷的含量

姜 勇\*(四川资中县人民医院,四川 资中 641200)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)12-1125-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.12.24

**摘要** 目的:建立测定丹栀逍遥散中栀子苷含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Agilent TC-C<sub>18</sub>,流动相为乙腈-水(15:85, V/V),检测波长为238 nm,流速为1.0 ml/min,柱温为30 ℃,进样量为10 μl。结果:栀子苷检测质量浓度在0.51~16.32 μg/ml范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系( $r=0.9995$ );精密性、稳定性、重复性试验的RSD≤2.30%;平均加样回收率为99.40%,RSD=1.99%( $n=9$ )。结论:该方法简单、准确、重复性好,可用于丹栀逍遥散中栀子苷的含量测定。

**关键词** 丹栀逍遥散;栀子苷;高效液相色谱法;含量测定

## Content Determination of Geniposide in Danzhi Xiaoyao Powder by HPLC

JIANG Yong(Zizhong County People's Hospital of Sichuan Province, Sichuan Zizhong 641200, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the method for the content determination of geniposide in Danzhi xiaoyao powder. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Agilent TC-C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of acetonitrile-water (15:85, V/C) at a flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was 238 nm and the column temperature was set at 30 ℃. The sample size was 10 μl. RESULTS: The linear range of geniposide was 0.51-16.32 μg/ml ( $r=0.9995$ ). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 2.30%; average recovery was 99.40% (RSD=1.99%,  $n=9$ ). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reproducible, and can be used for content determination of jasminoidin in Danzhi xiaoyao powder.

**KEYWORDS** Danzhi xiaoyao powder; Geniposide; HPLC; Content determination

丹栀逍遥散又叫八味道逍遥散,是调和肝脾剂,出自《内科摘要》,是在《太平惠民和剂局方》中所载的“逍遥散”的基础上加丹皮、栀子二药制成,具有疏肝解郁、健脾和营、兼清郁热之功效<sup>[1-2]</sup>。主要用于肝郁血虚、内有郁热证,如潮热晡热、烦躁

易怒,或自汗盗汗,或头痛目涩,或颊赤口干,或月经不调、少腹胀痛,或小便涩痛、舌红苔薄黄、脉弦虚数等<sup>[3-5]</sup>。目前,关于丹栀逍遥散中栀子苷含量测定的报道较少,故笔者参考相关文献<sup>[6-14]</sup>,采用高效液相色谱(HPLC)法对其中栀子苷的含量进

严格控制。

### 3.4 色谱柱的保护

PITC法衍生化试剂会使色谱柱填料过早老化,连续使用会导致柱效下降显著。故使用时,可在上柱前增加一根具有C<sub>18</sub>填料的预柱,以延长色谱柱的使用寿命。

### 3.5 其他

半胱氨酸的水溶液极其不稳定,一般需要使用强氧化剂将其氧化为稳定的化合物后再进行定量测定。目前,半胱氨酸多使用过甲酸将其氧化为磺基丙氨酸后再用氨基酸分析仪进行分析。但是,氨基酸分析仪用途单一,仪器和耗材的价格昂贵,不适用于企业质控<sup>[8]</sup>。本研究采用DTDPA为氧化剂,与PITC联合作为柱前衍生化试剂使用,不但可以准确测定产品中半胱氨酸的含量,且不影响其他氨基酸的测定,为企业质控带来方便,也可为复方氨基酸注射液质量标准的提高提供新途径。

## 参考文献

[1] 美国药典委员会.美国药典:34版[S].华盛顿:美国药典委员会,2012:568-573.

- [2] 陆明,孙黛妮,汪杨,等.OPA-FMOC联用柱前衍生化法测定复方氨基酸注射液中氨基酸的含量[J].药物分析杂志,2012,32(6):1085.
- [3] 陈宇堃,梁蔚阳,薛巧如,等.AccQ-Tag法测定复方氨基酸注射液(18AA-V))中17种氨基酸的含量[J].广东药学院学报,2008,24(2):243.
- [4] 瞿其曙,汤晓庆,胡效亚,等.柱前衍生化法在氨基酸分析测定中的应用[J].化工进展,2006,18(6):789.
- [5] 国家食品药品监督管理局.复方氨基酸注射液(18AA-IX):WS1-XG-022-2011[S].2011.
- [6] 国家食品药品监督管理局.复方氨基酸注射液(18AA-VII):YBH02452010[S].2010.
- [7] 夏苏捷,邵泓,陈钢.柱前衍生化HPLC法测定酱油中(半)胱氨酸的含量[J].中国食品卫生杂志,2008,20(4):304.
- [8] 阙微娜,王沪凯.高效液相色谱法测定复方氨基酸注射液(9AA)中抗氧剂的含量[J].中国生化药物杂志,2012,33(6):833.

(收稿日期:2013-05-10 修回日期:2014-02-07)

\* 主管药师。研究方向:临床药学。电话:0832-5526282。E-mail:jjyy9941370@163.com

行测定,以为更好地控制其产品质量提供科学依据。

## 1 材料

1200型HPLC仪,包括G1379A真空脱气泵、G1313A自动进样器、G1311A四元泵、G1316A柱温箱、G1315B二极管阵列检测器(美国安捷伦公司),78HW-1恒温磁力搅拌器(江苏金坛市中大仪器厂);KQ-50B超声波发生器(昆山市超声仪器有限公司);BS224S电子天平(德国赛多利斯公司)。

栀子苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110749-201102);丹栀逍遥散(四川省中医药研究院,批号:20121209、20121211、20121213);甲醇为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent TC-C<sub>18</sub>(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相:乙腈-水(15:85, V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:238 nm;柱温:30℃;进样量:10 μl。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取栀子苷对照品0.001 02 g,置于50 ml量瓶中,加入70%甲醇溶液溶解并稀释至刻度,摇匀,即得每1 ml含0.020 4 mg的栀子苷对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 称取丹栀逍遥散粉末约0.4 g,置于50 ml量瓶中,加入70%甲醇溶液50 ml,超声处理30 min(功率:150 W,频率:40 kHz),摇匀,用0.45 μm孔径微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.2.3 阴性对照溶液 按丹栀逍遥散的处方制备不含栀子药材的阴性样品,再按“2.2.2”项下方法进行处理,即得阴性对照溶液。

### 2.3 专属性试验

按“2.1”项下色谱条件,分别量取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各10 μl进样测定,记录色谱,详见图1。结果,供试品溶液中栀子苷峰保留时间与对照品溶液中栀子苷峰保留时间一致,且与相邻杂质峰分离度较好;阴性对照溶液在栀子苷峰相应位置处无吸收峰,说明其对含量测定无干扰。

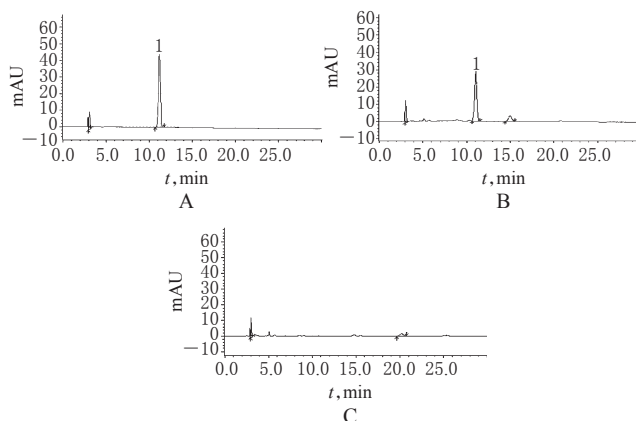


图1 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 栀子苷

Fig 1 HPLC chromatograms

A. substance control; B. test sample; C. negative control; 1. geniposide

### 2.4 线性关系考察

精密量取“2.2.1”项下对照品溶液0.50、1.00、2.00、4.00、8.00、16.00 ml,分别置于20 ml量瓶中,加入70%甲醇溶液稀释至刻度,摇匀,每个浓度进样10 μl,记录色谱。以峰面积(y)为纵坐标,检测质量浓度(x)为横坐标,进行线性回归,得回归方程 $y=258.63x+89.02$ ( $r=0.999 5$ )。结果表明,栀子苷检测质量浓度在0.51~16.32 μg/ml范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

### 2.5 精密度试验

取“2.2.1”项下对照品溶液10 μl,重复进样6次,记录栀子苷的峰面积。结果,RSD=0.91%,表明仪器的精密度良好。

### 2.6 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:20121209)适量,分别于放置0、2、4、6、8、10、12、24 h时进样,记录栀子苷的峰面积。结果,RSD=1.62%,表明供试品溶液在24 h内质量稳定。

### 2.7 重复性试验

精密称取样品(批号:20121209)5份,各约0.4 g,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定并计算栀子苷的含量。结果,RSD=2.30%,表明本方法的重复性较好。

### 2.8 加样回收率试验

精密称取已知含量的样品(批号:20121209)9份,各约0.28 g,分别加入“2.2.1”项下对照品溶液12、16、18 ml,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果(n=9)

Tab 1 Results of recovery test(n=9)

称样量, g	所含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平样加样回收率, %	RSD, %
0.282	0.314	0.245	0.566	102.86		
0.285	0.316	0.245	0.559	99.18		
0.289	0.318	0.245	0.559	97.55		
0.280	0.313	0.326	0.631	97.54		
0.278	0.312	0.326	0.634	98.77	99.40	1.99
0.286	0.317	0.326	0.636	97.85		
0.291	0.320	0.367	0.681	98.37		
0.288	0.318	0.367	0.693	102.18		
0.294	0.322	0.367	0.690	100.27		

### 2.9 样品含量测定

称取3批丹栀逍遥散样品各适量,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液。取对照品溶液和3批供试品溶液各10 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定,按标准曲线法以峰面积计算其中栀子苷的含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果(mg/g, n=3)

Tab 2 Results of content determination of samples(mg/g, n=3)

批号	含栀子苷的量
20121209	0.65
20121211	0.64
20121213	0.62

### 3 讨论

#### 3.1 检测波长的选择

取栀子苷对照品溶液作紫外光谱扫描,结果可见在237.8 nm波长处有最大吸收,且在(237.8±2) nm波长范围内吸收稳定,基线较好,对测定无干扰。因此,笔者参考2010年版《中国药典》(一部)中关于栀子药材中栀子苷的检测标准中的最大吸收波长,并结合本研究,最终选用238 nm作为本试验的检测波长。

#### 3.2 流动相的选择

参考相关文献<sup>[15-17]</sup>,笔者曾采用了不同比例的乙腈-水作为流动相。结果发现,随着流动相中乙腈的减少,栀子苷的保留时间不断延长,峰形不佳;而随着乙腈的增加,栀子苷与相邻杂质峰的分度不断减小,当乙腈与水比例为15:85时,栀子苷的峰形较好,且与相邻杂质峰能达到较好的分离,保留时间适中。故选择乙腈-水(15:85, V/V)作为流动相。

#### 3.3 超声提取方法的选择

笔者曾分别采用50%甲醇、70%甲醇、80%甲醇和水进行了超声提取。结果表明,采用70%甲醇提取时,测得栀子苷的含量较高。同时,又分别以70%甲醇超声15、30、45 min进行比较。结果表明,超声30 min时,色谱中的杂质峰较少,提取效果最好,且对测定栀子苷的含量影响较小。故选择70%甲醇超声提取30 min。

综上所述,本方法简单、准确、重复性好,可用于丹栀逍遥散中栀子苷的含量测定。

#### 参考文献

- [1] 王乔,曾安贵.丹栀逍遥散加减在慢性盆腔炎治疗中的应用效果观察[J].内蒙古中医药,2011,30(8):52.
- [2] 程乐,曹耀丹,陈慧.丹栀逍遥散对大肠杆菌感染致慢性盆腔炎大鼠模型治疗作用的实验研究[J].中国现代中药,2013,15(2):18.
- [3] 周桑玉,陈琳洁,洪茜.丹栀逍遥丸联合铝碳酸镁治疗胃食管反流病46例临床观察[J].中华全科医学,2007,5

(2):112.

- [4] 赵立英.丹栀逍遥丸加减治疗功能性烧心20例[J].山东中医杂志,2010,29(8):544.
- [5] 冯光荣.二至丸合丹栀逍遥丸加减治疗肾虚肝郁型经间期出血50例临床观察[J].中医临床研究,2012,4(2):78.
- [6] 朱琦,吴炳忠,沈晓霞.产地和采收时间对栀子中栀子苷含量的影响[J].中国现代中药,2012,14(7):18.
- [7] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:231.
- [8] 赵淑杰,杨颖,梁大雪,等.栀子及不同炮制品中栀子苷的含量分析[J].中国中药杂志,1994,19(10):601.
- [9] 林瑞群,姚五湖.HPLC法测定清肺抑火片中栀子苷的含量[J].中药新药与临床药理,2009,20(2):161.
- [10] 黄雪梅,孔晓龙,蒋伟哲等.RP-HPLC法测定功来去火片中栀子苷的含量[J].药物分析杂志,2003,23(1):79.
- [11] 周瑾,庄惠清.HPLC法测定丹栀逍遥丸中栀子苷和芍药苷的含量[J].中国药事,2007,21(7):495.
- [12] 周欣,杨文业.高效液相色谱法测定丹栀逍遥丸中栀子苷、芍药苷、丹皮酚和甘草酸含量[J].药物分析杂志,2005,25(7):784.
- [13] 侯玉华,李君,丛晓东.HPLC法测定复方丹栀逍遥丸中丹皮酚的含量[J].中国药师,2010,13(9):1269.
- [14] 南淑华.丹栀逍遥丸质量标准的研究[J].海峡药学,2005,17(3):88.
- [15] 蓝鸣生,陈路,覃成芳,等.五淋散胶囊中栀子苷和芍药苷的HPLC含量测定[J].中国新药杂志,2010,19(14):1281.
- [16] 侯玉华,李智,李俊雅,等.RP-HPLC法测定复方丹栀逍遥丸中栀子苷的含量[J].中国药房,2010,21(47):4480.
- [17] 李卫华.HPLC法测定丹栀逍遥丸中芍药苷的含量[J].海峡药学,2001,13(2):38.

(收稿日期:2013-12-13 修回日期:2014-01-07)

## 国家食品药品监督管理总局党组成员孙咸泽赴广东调研食品药品应急管理和检验检测体系建设工作

本刊讯 2014年2月19-21日,国家食品药品监督管理总局党组成员孙咸泽在广东调研食品药品应急管理和检验检测体系建设工作。

调研期间,孙咸泽先后到广东省食品药品监督管理局、广东省食品药品检验所、广东省医疗器械检验所、广州市食品药品监督管理局、广州市药品检验所、深圳市药品监督管理局、深圳市药品检验所,听取应急管理和检验检测体系建设工作情况汇报。召开了周边六省二市食品药品监督管理局有关负责人座谈会,征求对《关于加强食品药品安全应急管理工作的指导意见(征求意见稿)》的意见和建议。

孙咸泽在调研中指出,随着机构改革和职能转变的不断推进,统一权威的食品药品监管体制机制正在逐步推进,群众对食品药品监管工作的期待更高,社会各界对食品药品安全也将更加关注。我们一要引导社会公众树立正确的食品药品安全理念,在全社会推崇科学饮食、合理用药、健康生活的习

惯。二要在全系统牢固树立“全程防范、全员应急”的理念。必须将应急工作贯穿于食品药品生产经营日常监管的全环节、全链条,通过风险监测、隐患排查、鼓励举报、社会动员等各种手段,及时发现风险隐患,提前防范区域性、系统性风险。三要尽快实现从重处置到重预防的转变,从防范人身伤害到人身伤害、社会风险双防范的转变。各级食品药品监管部门都要树立主动防范、及早介入的意识,做到关口前移,以防为主,努力把事故消灭在萌芽之中,把风险化解在初发状态,把危害和影响控制到最低程度和最小范围。四要积极推进食品药品检验检测体系建设工作。检验检测是食品药品监管工作的重要技术支撑,各地食品药品监管部门要按照“234”的检验检测体系总体框架要求,积极配合总局开展食品药品检验检测体系整合工作,优化检验检测资源布局,提高检验检测能力。