

HPLC法测定中药愈伤便捷湿巾药液中梔子苷的含量^Δ

杨璐璐^{1*}, 秦学玲², 彭静¹, 宁亚功¹(1.成都军区昆明总医院中医科, 昆明 650032; 2.云南省食品药品检验所, 昆明 650011)

中图分类号 R284.1; R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)33-4701-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.33.32

摘要 目的: 建立测定中药愈伤便捷湿巾药液中梔子苷含量的方法。方法: 采用高效液相色谱法。色谱柱为 Agilent Zorbax SB-C₁₈, 流动相为乙腈-0.1%磷酸(10:90, V/V), 流速为 1.0 ml/min, 检测波长为 236 nm, 柱温为 30 ℃, 进样量为 10 μl。结果: 梔子苷的检测进样量线性范围为 0.104 1~1.041 μg ($r=0.999\ 8$); 精密性、稳定性、重复性试验的 RSD 均 < 2%; 加样回收率为 99.04%~100.82%, RSD 为 0.85% ($n=6$)。结论: 该方法简便、准确、重复性好, 可用于中药愈伤便捷湿巾药液中梔子苷的含量测定。

关键词 高效液相色谱法; 中药愈伤便捷湿巾; 药液; 梔子苷; 含量测定

Content Determination of Geniposide in TCM Callus Convenient Wipes Drug Solution by HPLC

YANG Lu-lu¹, QIN Xue-ling², PENG Jing¹, NING Ya-gong¹(1. Dept. of Traditional Chinese Medicine, Kunming General Hospital of Chengdu Military Command, Kunming 650032, China; 2. Yunnan Institute for Food and Drug Control, Kunming 650011, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of geniposide in TCM callus convenient wipes drug solution. METHODS: HPLC was performed on the column of Agilent Zorbax SB-C₁₈ with mobile phase of acetonitrile-0.1% phosphoric (10:90, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min, column temperature was 30 ℃, detection wavelength was 236 nm and the volume was 10 μl. RESULTS: The linear range of geniposide was 0.104 1-1.041 μg ($r=0.999\ 8$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 2%; recovery was 99.04%-100.82% (RSD=0.85%, $n=6$). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate, reproducible, and can be used for the content determination of geniposide in TCM callus convenient wipes drug solution.

KEYWORDS HPLC; TCM callus convenient wipes; Drug slution; Geniposide; Content determination

中药愈伤便捷湿巾是由梔子、白及、马勃等药材提取精制成药液, 以湿巾为载体的一种含药湿巾, 为外用中药制剂; 具有消肿镇痛、止血愈伤的功效, 可用于软组织扭挫伤所致的肿痛及创伤出血, 使用时将湿巾敷于患处即可。中药愈伤便捷湿巾具有使用方便、费用低廉、易于保存、利于自救互救的特点。梔子是方中君药, 本方主要取梔子凉血解毒、清热利湿的功效。现代研究发现, 梔子中含 40 余种生物活性物质, 主要为环烯醚萜类和挥发油类; 而国内外公认的梔子有效成分为环烯醚萜类物质, 其中含量最高的为梔子苷。梔子苷具有抗炎和一定的镇痛作用。此外, 梔子苷还具有抗病毒、保肝利胆、抗肿瘤等作用^[1-2]。梔子苷也是梔子质量检测的法定指标成分^[3]。目前中药愈伤便捷湿巾中梔子苷的含量测定尚未见文献报道, 为此本研究采用高效液相色谱(HPLC)法测定中药愈伤便捷湿巾中梔子苷的含量, 以为中药愈伤便捷湿巾的质量控制提供参考。

1 材料

1.1 仪器

LC-20A 型 HPLC 仪(日本岛津公司); TB-215D 型电子天

平(美国丹佛仪器有限公司); UE10SFD 型超声波清洗器(天津奥特赛恩斯仪器有限公司, 功率: 250 W, 频率: 50 kHz)。

1.2 药品与试剂

中药愈伤便捷湿巾药液(成都军区昆明总医院自制, 批号: 20130816、20130817、20130818); 梔子苷对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 110749-200714, 纯度: 100%); 乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯, 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Agilent Zorbax SB-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1%磷酸(10:90, V/V); 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 236 nm; 柱温: 30 ℃; 进样量: 10 μl。色谱见图 1。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取梔子苷对照品 0.010 41 g, 加甲醇制成每 1 ml 含梔子苷 0.208 2 mg 的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 精密量取中药愈伤便捷湿巾药液 2 ml, 置于具塞锥形瓶中, 蒸干; 精密加入甲醇 25 ml, 密塞, 称定质量, 超声处理 20 min, 放冷, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 经微孔滤膜(0.45 μm) 滤过。精密量取续滤液 10 ml, 置于 25 ml 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀; 再精密量取 5 ml, 置于 50 ml 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.3 阴性对照溶液 取除梔子外的其他处方药材各适量,

Δ 基金项目: 全军医药卫生科研基金课题(No. 06G050)

* 副主任药师, 硕士。研究方向: 中药制剂及药理学。电话: 0871-4774646。E-mail: Yanguu09@163.com

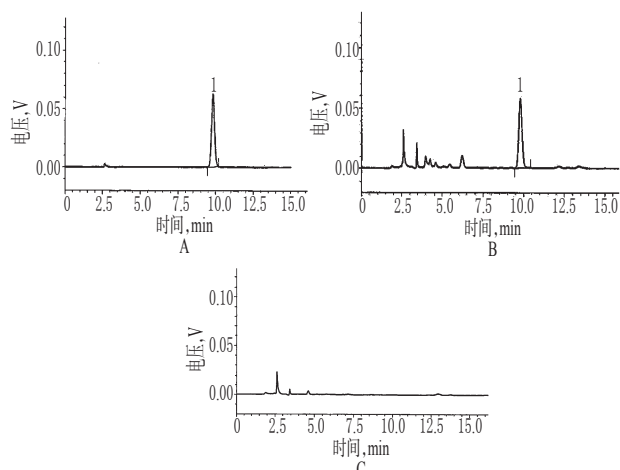


图1 高效液相色谱图

A. 栀子苷对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 栀子苷

Fig 1 HPLC chromatograms

A. reference substance; B. test sample; C. negative control; 1. geniposide
按中药愈伤便捷湿巾药液制备工艺制成缺栀子的阴性样品, 再按“2.2.2”项下方法制成阴性对照溶液。

2.3 线性关系考察

精密吸取栀子苷对照品溶液 0.5、1、2、3、4、5 ml, 分别置于 10 ml 量瓶中, 加甲醇定容, 按“2.1”项下色谱条件进样测定。以进样量($x, \mu\text{g}$)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归, 得栀子苷的回归方程为 $y=2\ 964.8x+31.615$ ($r=0.999\ 8$)。结果表明, 栀子苷的检测进样量线性范围为 $0.104\ 1\sim 1.041\ \mu\text{g}$ 。

2.4 精密度试验

精密吸取“2.2”项下对照品溶液 $10\ \mu\text{l}$ 注入 HPLC 仪, 按“2.1”项下色谱条件重复进样 6 次, 记录峰面积。结果, 栀子苷峰面积的 RSD 为 0.23% ($n=6$), 表明仪器精密度良好。

2.5 稳定性试验

取同一批供试品溶液(批号: 20130816)适量, 分别于放置 0、2、4、8、16 h 时按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果, 栀子苷峰面积的 RSD 为 0.48% ($n=5$), 表明供试品溶液在 16 h 内稳定性良好。

2.6 重复性试验

取同一批样品(批号: 20130816)适量, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液 6 份, 再按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果, 栀子苷峰面积的 RSD 为 0.07% , 表明本方法重复性良好。

2.7 加样回收率试验

精密量取已知含量的同一批(批号: 20130816)样品 6 份, 每份 1 ml, 分别精密加入一定量的栀子苷对照品, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 结果见表 1。

2.8 样品含量测定

取 3 批中药愈伤便捷湿巾药液样品各适量, 分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.1”项下色谱条件进样测定, 计算样品含量, 结果见表 2。

3 讨论

本试验曾选用甲醇-水、甲醇-0.1% 磷酸、乙腈-水、乙

表 1 加样回收率试验结果 ($n=6$)

Tab 1 Results of recovery test ($n=6$)

样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
17.929	17.900	35.746 7	99.54		
17.929	17.900	35.898 8	100.39		
17.929	17.900	35.657 2	99.04		
17.929	17.900	35.975 8	100.82	99.59	0.85
17.929	17.900	35.592 7	98.68		
17.929	17.900	35.659 0	99.05		

表 2 样品含量测定结果 ($n=3, \text{mg/ml}$)

Tab 2 Results of content determination of samples ($n=3, \text{mg/ml}$)

批号	含量
20130816	17.93
20130817	17.58
20130818	18.10

腈-0.1% 磷酸作为流动相, 并调节流动相的比例, 结果以乙腈-0.1% 磷酸(10:90, V/V)为流动相^[4-8]时分离效果佳、峰形好、基线较稳定。

栀子苷对照品溶液理论上在 238 nm 波长处吸收较强^[9], 而实际中供试品溶液中栀子苷在 236 nm 波长处响应值最大, 且干扰较小, 故选择 236 nm 为检测波长。

本试验考察了回流提取法和超声提取法, 结果两种方法提取效率相当, 由于超声提取法具有效率高、操作简便等优点, 所以采取超声提取法^[4-10]; 本试验还考察了以甲醇、不同比例的甲醇-水为提取溶剂, 结果甲醇提取效果较好、杂质成分少, 所以采用甲醇为提取溶剂; 本试验亦考察了超声提取时间 20、30、40、60 min, 结果超声提取 20、30、40、60 min 提取效率相当, 故确定超声提取时间为 20 min。

综上所述, 本试验所建立的方法简便、准确、重复性好, 可用于中药愈伤便捷湿巾药液中栀子苷的含量测定。

参考文献

- [1] 游伟良, 平其能, 孙敏捷, 等. 栀子苷的药理学研究新进展[J]. 药学进展, 2012, 36(4): 158.
- [2] 吴虹, 魏伟, 宋礼华, 等. 栀子总苷的抗炎镇痛作用研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2006, 13(7): 31.
- [3] 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: 2 131.
- [4] 孟宪波. HPLC 测定莲栀清胶胶囊中栀子苷、穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(14): 155.
- [5] 笔雪艳, 刘晓凤, 张清波, 等. HPLC 法测定清开灵泡腾片中栀子苷的含量[J]. 中国药房, 2011, 22(3): 240.
- [6] 张留记, 刘钦松, 屠万倩, 等. RP-HPLC 法同时测定不同产地栀子中栀子苷、西红花苷-I 和西红花苷-II 的含量[J]. 中国药房, 2011, 22(7): 630.
- [7] 李延雪, 王云龙, 邵礼梅, 等. 高效液相色谱法同时测定耳聋通窍丸中龙胆苦苷和栀子苷含量[J]. 中国药业, 2012, 21(20): 45.
- [8] 张勇, 薛昆鹏, 何美, 等. 固相萃取/超高效液相色谱法测定龙胆泻肝丸中栀子苷、龙胆苦苷与黄芩苷[J]. 分析测

天麻蜜制片的质量标准研究[△]

左爱萍^{1*},王传方²,潘梅¹,唐靖雯^{1#},张丽艳³,吴浩²,龚建平⁴(1.贵州威门药业股份有限公司,贵阳550018;2.贵州同威生物科技有限公司,贵州毕节551600;3.贵阳中医学院药学院,贵阳550002;4.中药固体制剂制造技术国家工程研究中心,南昌330006)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)33-4703-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.33.33

摘要 目的:建立天麻蜜制片的质量标准。方法:采用薄层色谱(TLC)法对制剂中天麻素和对羟基苯甲醇进行鉴别;测定制剂中水分、灰分和浸出物含量;采用高效液相色谱法测定制剂中天麻素和羟基苯甲醇含量。色谱柱为Diamonsil C₁₈,流动相为乙腈-0.05%磷酸(3:97,V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为220 nm,柱温为25℃,进样量为10 μl。结果:天麻素和对羟基苯甲醇的TLC图斑点清晰,分离度好。制剂水分<35.0%,总灰分<2.0%,浸出物>40.0%。天麻素、羟基苯甲醇检测质量浓度线性范围分别为25.2~126.0、12.7~63.5 μg/ml(*r*均为0.999 9);精密密度、稳定性、重复性试验的RSD<2.0%;加样回收率分别为99.49%~102.40%、98.75%~102.63%,RSD分别为1.09%、1.53%。结论:该方法操作简便、重复性好,可用于天麻蜜制片的质量控制。

关键词 天麻蜜制片;质量标准;高效液相色谱法;天麻素;羟基苯甲醇

Study on the Quality Standards for *Gastrodia elata* Honey-fired Tablet

ZUO Ai-ping¹, WANG Chuan-fang², PAN Mei¹, TANG Jing-wen¹, ZHANG Li-yan³, WU Hao², GONG Jian-ping⁴(1.Guizhou Warmen Pharmaceutical Co., Ltd., Guiyang 550018, China; 2.Guizhou Tongwei Biotechnology Co., Ltd., Guizhou Bijie 551600, China; 3.Dept. of Pharmacy, Guiyang College of TCM, Guiyang 550002, China; 4.National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation in Chinese Herbal Medicine, Nanchang 330006, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard for *Gastrodia elata* honey-fired tablet. METHODS: TLC was used to identify the gastrodin and benzyl alcohol and determine the content of moisture, ash and extract; HPLC was used to determine the content of gastrodin and benzyl alcohol. Column was Diamonsil C₁₈ with mobile phase of acetonitrile-0.05% phosphate (3:97, V/V) at flow rate of 1.0 ml/min, detection wavelength was 220 nm, column temperature was 25℃ and volume injection was 10 μl. RESULTS: The TLC of gastrodin and benzyl alcohol showed clear spots and good separation. The moisture content<35.0%, total ash contents<2.0% and extract content>40.0%. Linear range of gastrodin was 25.2-126.0, 12.7-63.5 μg/ml (*r*=0.999 9), respectively; RSDs of precision, reproducibility and stability tests were lower than 2.0%; recovery was 99.49%-102.40% (RSD=1.09%, *n*=6), 98.75%-102.63% (RSD=1.53, *n*=6), respectively. CONCLUSIONS: The method is simple and good reproducibility, and can be used for the quality control of *Gastrodia elata* honey-fired tablet.

KEYWORDS *Gastrodia elata* honey-fired tablet; Quality standard; HPLC; Gastrodin; Benzyl alcohol

天麻是古今医家常用的名贵中药^[1],具有息风止痉、平抑肝阳,祛风通络之功效。天麻蜜制片是由天麻中的佳品贵州鲜天麻精制而成的饮片。将鲜天麻切片加以蜂蜜炙^[2-4],作用有三:其一,起协同作用,增强天麻的滋阴补血、益气固精、安神定志等补益作用;其二,起矫味作用,赋予天麻良好的适口性,便于直接服用;其三,可保存天麻中的各种有效成分,充分发挥天麻的药效作用。笔者通过考察天麻蜜制片的薄层色

谱(TLC)鉴别、水分、灰分、浸出物,以及天麻素和对羟基苯甲醇的含量,初步建立了天麻蜜制片的质量标准。

1 材料

1.1 仪器

2695型高效液相色谱(HPLC)仪,包括二级管阵列检测器(美国Waters公司);KQ-250DB型超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司);AMW2200型十万分之一电子天平(日本岛津

试学报,2013,32(1):122.

△基金项目:贵州省中药现代化科技产业研究开发专项项目(黔科合SY字[2014]3019号)

*副主任药师。研究方向:中药质量管理及质量标准。电话:0851-86312625。E-mail:wmzgb@163.com

#通信作者:高级工程师。研究方向:中药新药、保健食品研发及质量控制。电话:0851-86312620。E-mail:cyun819@163.com

[9] 朱继孝,罗光明,陈岩,等.栀子质量的化学模式识别研究[J].时珍国医国药,2011,22(11):2628.

[10] 游剑,邓青云,高丽,等.不同工艺对栀子苷提取效果的比较研究[J].江苏农业科学,2012,40(1):220.

(收稿日期:2015-02-04 修回日期:2015-08-12)

(编辑:刘柳)