

# HPLC法同时测定心神宁片中栀子苷和甘草苷的含量

宋佳<sup>1,2\*</sup>, 段树卿<sup>2</sup>, 李云霞<sup>2#</sup> (1.承德医学院研究生院, 河北承德 067000; 2.颈复康药业集团有限公司, 河北承德 067000)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)27-3862-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.27.42

**摘要** 目的:建立同时测定心神宁片中栀子苷和甘草苷含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Inertsil ODS-3,流动相为乙腈-水(梯度洗脱),流速为1.0 ml/min,柱温为25℃,检测波长为238 nm,进样量为10 μl。结果:栀子苷、甘草苷质量浓度分别在16.3~407.9、7.4~185.9 μg/ml范围内与各自峰面积呈良好的线性关系( $r$ 均为0.999 9);精密性、稳定性、重复性试验的RSD≤1.63%;平均加样回收率分别为99.05%、98.00%,RSD分别为1.28%、1.84%( $n=9$ )。结论:该方法准确、灵敏、简便,可用于心神宁片中栀子苷和甘草苷的含量测定。

**关键词** 高效液相色谱法;心神宁片;栀子苷;甘草苷;含量

## Simultaneous Determination of the Contents of Geniposide and Liquiritin in Xinshenning Tablets by HPLC

SONG Jia<sup>1</sup>, DUAN Shu-qing<sup>2</sup>, LI Yun-xia<sup>2</sup> (1.Dept. of Graduate, Chengde Medical College, Hebei Chengde 067000, China; 2.Jingfukang Pharmaceutical Group Co., Ltd., Hebei Chengde 067000, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of the contents of geniposide and liquiritin in Xinshenning tablets. METHODS: HPLC was performed on the column of Inertsil ODS-3 with mobile phase of acetonitrile-water (gradient elution) at flow rate of 1.0 ml/min, the column temperature was 25 °C, detection wavelength was 238 nm and the volume was 10 μl. RESULTS: The mass concentration range was 16.3-407.9 μg/ml for geniposide ( $r=0.999\ 9$ ) and 7.4-185.9 μg/ml for liquiritin ( $r=0.999\ 9$ ); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were no more than 1.63%; average recoveries were 99.05% (RSD=1.28%,  $n=9$ ) and 98.00% (RSD=1.84%,  $n=9$ ), respectively. CONCLUSIONS: The established method is accurate, sensitive and simple, and can be used for the contents determination of geniposide and liquiritin in Xinshenning tablets.

**KEYWORDS** HPLC; Xinshenning tablets; Geniposide; Liquiritin; Content

心神宁片由酸枣仁、远志、茯苓、栀子、神曲、甘草等六味中药组成,收载于国家药品标准[WS-10410(ZD-0410)2002-2012Z],具有养血除烦、宁心安神的功效,可用于心肝血虚、失眠多梦、烦躁而惊、疲倦食少等症。现行国家标准中含量测定项下只测定了栀子苷含量一项<sup>[1]</sup>。目前,国内外有对心神宁片中酸枣仁皂苷A、B及栀子苷含量测定的相关报道<sup>[1-3]</sup>,但未见心神宁片中测定甘草苷含量的报道。为此,笔者参考相关文献<sup>[4-6]</sup>,采用高效液相色谱(HPLC)法同时测定了心神宁片中栀子苷、甘草苷的含量,以为心神宁片的质量控制提供参考。

## 1 材料

Agilent 1100 HPLC仪,包括G1322A型真空脱气机、Agilent 1100型泵、G1313A型自动进样器、紫外检测器、Chem-Station色谱工作站(美国Agilent公司);KQ-500DE型医用数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率:500 W,频率:40 kHz);AE 240型十万分之一电子分析天平(瑞士Mettler-Toledo公司)。

心神宁片(颈复康药业集团有限公司,批号:392170、492009、492016、492043、492241、492242、492247;某药厂市售,批号:140519、140802、140804,规格均为0.25 g/片);栀子苷

对照品(批号:110749-201316,纯度:97.5%)、甘草苷对照品(批号:11610-201106,纯度:93.7%)均购于中国食品药品检定研究院;乙腈(美国Fisher公司)为色谱纯;乙醇(天津佳兴化工玻璃仪器工贸有限公司)为分析纯,水为三级反渗透法制得的纯化水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Inertsil ODS-3(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈(A)-水(B),梯度洗脱(0~10 min,12% A→19% A;10~18 min,19% A~30% A;18~21 min,30% A→12% A);流速:1.0 ml/min;柱温:25℃;检测波长:238 nm;进样量:10 μl。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 精密称取栀子苷、甘草苷对照品适量,加入70%乙醇,制成每1 ml含栀子苷0.08 mg、甘草苷0.04 mg的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取心神宁片数片,除去包衣,研细,取约0.5 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入70%乙醇50 ml,称定质量,超声处理45 min,放冷,再次称定质量,用70%乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,续滤液经0.45 μm的微孔滤膜滤过,即得。

2.2.3 阴性对照溶液 按处方中的药味比例,分别配制不含栀子和甘草的阴性样品,按“2.2.2”项下方法制备阴性对照溶

\* 硕士研究生。研究方向:中药制剂工艺及质量标准。E-mail:1160984017@qq.com

# 通信作者:高级工程师。研究方向:中药生产工艺、质量管理、质量标准研究。E-mail:cdjfk-lyx@163.com

液,即得。

### 2.3 专属性试验

精密吸取“2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液及阴性对照溶液各10 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱。结果,在该色谱条件下,阴性样品对测定无干扰。色谱见图1。

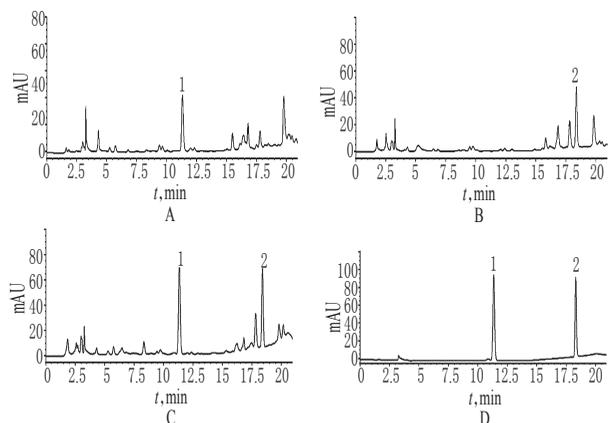


图1 高效液相色谱图

A.缺甘草的阴性样品;B.缺栀子的阴性样品;C.供试品;D.混合对照品;1.栀子苷;2.甘草苷

Fig 1 HPLC chromatograms

A.negative samples without *Glycyrrhiza uralensis*; B.negative samples without *Gardenia jasminoides*; C.test sample; D.mixed reference; 1. geniposide; 2. liquiritin

### 2.4 线性关系考察

精密称取栀子苷、甘草苷对照品各适量,加入70%乙醇分别制成每1 ml含栀子苷0.815 9 mg、甘草苷0.371 8 mg的对照品母液;分别精密量取上述对照品母液25 ml,置于同一50 ml量瓶中,制成每1 ml含栀子苷、甘草苷0.185 9 mg的混合对照品贮备液。分别精密吸取对照品贮备液1、2、4、5、6、8、25 ml,置于25 ml量瓶中,加70%乙醇稀释至刻度,摇匀,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以质量浓度( $x, \mu\text{g/ml}$ )为横坐标、峰面积( $y$ )为纵坐标进行线性回归,得栀子苷、甘草苷回归方程分别为 $y=11\ 663x+11.482$  ( $r=0.999\ 9$ )、 $y=19\ 034x+16.519$  ( $r=0.999\ 9$ )。结果表明,栀子苷、甘草苷质量浓度在16.3~407.9、7.4~185.9 μg/ml范围内与各自峰面积呈良好的线性关系。

### 2.5 定量限与检测限

以信噪比为10计算栀子苷、甘草苷的最低定量限分别为5.439、2.478 6 ng;以信噪比为3计算栀子苷、甘草苷的最低检测限分别为1.813、0.826 2 ng。

### 2.6 精密度试验

精密吸取“2.2.1”项下栀子苷和甘草苷质量浓度分别为0.081 6、0.037 2 mg/ml的混合对照品溶液10 μl,按“2.1”项下色谱条件连续进样6次,记录峰面积。结果,栀子苷、甘草苷峰面积的RSD分别为0.67%、0.78% ( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

### 2.7 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:492009)10 μl,分别于放置0、2、4、6、8、10、12 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、甘草苷峰面积的RSD分别为0.80%、1.63% ( $n=6$ ),表明供试品溶液在12 h内稳定性良好。

### 2.8 重复性试验

精密称取心神宁片(批号:492009)粉末适量,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、甘草苷的平均含量分别为8.725 8、3.404 9 mg/g,RSD分别为1.46%、0.74% ( $n=6$ ),表明本方法重复性较好。

### 2.9 加样回收率试验

精密称取已知含量的样品(批号:492009)约0.25 g,共9份,分别加入一定量的混合对照品溶液,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,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 Result of recovery test ( $n=9$ )

待测成分	取样量, g	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, %			
栀子苷	0.251 3	2.135 2	1.060 6	3.176 6	98.19	99.05	1.28			
	0.251 2	2.135 2	1.060 6	3.175 8	98.11					
	0.251 6	2.135 8	1.060 6	3.195 2	98.89					
	0.251 3	2.135 2	2.121 3	4.287 7	101.47					
	0.251 4	2.135 7	2.121 3	4.270 0	100.61					
	0.251 9	2.136 3	2.121 3	4.220 6	98.26					
	0.251 2	2.135 2	3.263 5	5.339 7	98.19					
	0.251 5	2.135 2	3.263 5	5.366 3	99.01					
	0.251 3	2.135 3	3.263 5	5.336 7	98.10					
	甘草苷	0.251 3	0.840 7	0.409 0	1.252 8			100.76	98.00	1.84
		0.251 2	0.840 7	0.409 0	1.243 0			98.36		
		0.251 6	0.841 1	0.409 0	1.253 3			100.78		
		0.251 3	0.840 7	0.855 1	1.683 8			98.60		
		0.251 4	0.841 1	0.855 1	1.672 2			97.19		
		0.251 9	0.841 5	0.855 1	1.665 9			96.41		
0.251 2		0.840 7	1.264 1	2.065 3	96.88					
0.251 5		0.841 1	1.264 1	2.050 6	95.68					
0.251 3		0.840 7	1.264 1	2.070 8	97.31					

### 2.10 样品含量测定

取10批心神宁片适量,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,按外标法计算样品含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果( $n=9, \text{mg/g}$ )

Tab 2 Results of content determination of samples ( $n=9, \text{mg/g}$ )

批号	栀子苷含量		甘草苷含量
	现行标准方法	本试验方法	
392170	7.6	7.863 4	3.311 6
492009	8.4	8.527 3	3.175 9
492016	7.2	7.225 4	3.443 1
492043	5.6	6.195 0	2.859 5
492241	6.8	7.317 2	2.691 2
492242	5.6	6.415 6	2.629 6
492247	5.6	5.887 2	3.037 6
140519	8.4	9.807 2	0.798 6
140802	8.0	9.022 9	0.764 7
140804	7.6	8.383 5	0.836 1

## 3 讨论

### 3.1 色谱条件的优化

笔者以二级阵列检测器对栀子苷、甘草苷进行全波长波长(200~400 nm)扫描,结合3D图谱,发现二者在238 nm波长处均有较大吸收,故选用238 nm为检测波长;又考察了两种色谱柱CAPCELL PAKMG C<sub>18</sub>、Inertsil ODS-3,其中Inertsil ODS-

# 丹珍头痛胶囊的HPLC指纹图谱研究

张宇霞<sup>1,2,3\*</sup>, 答占全<sup>1</sup>, 王统霞<sup>1</sup>, 李春梅<sup>1</sup>, 纪兰菊<sup>1#</sup>(1.青海益欣药业有限责任公司, 西宁 810003; 2.中国科学院西北高原生物研究所/中国科学院藏药研究重点实验室, 西宁 810001; 3.中国科学院大学生命科学学院, 北京 100049)

中图分类号 R284.1; R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)27-3864-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.27.43

**摘要** 目的:建立丹珍头痛胶囊的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱。方法:采用HPLC法。色谱柱为Dikma Diamonsil C<sub>18</sub>, 流动相A为水, 流动相B为甲醇-乙腈, 梯度洗脱, 流速为1.0 ml/min, 检测波长为340 nm, 柱温为40 ℃, 进样量为20 μl, 记录时间为65 min。结果:精密性、稳定性、复复性试验的RSD≤0.23%; 标定10批丹珍头痛胶囊共有峰13个, 相似度均>0.90。结论:该方法简便、准确、重复性好, 可用于丹珍头痛胶囊的工艺稳定性评价和质量控制。

**关键词** 丹珍头痛胶囊; 高效液相色谱法; 指纹图谱; 相似度

## Study on the HPLC Fingerprint Chromatogram of Danzhen Headache Capsules

ZHANG Yu-xia<sup>1,2,3</sup>, ZAN Zhan-quan<sup>1</sup>, WANG Tong-xia<sup>1</sup>, LI Chun-mei<sup>1</sup>, JI Lan-ju<sup>1</sup>(1.Qinghai Yixin Pharmaceuticals Co., Ltd, Xining 810003, China; 2.Northwest Institute of Plateau Biology/Key Laboratory of Zang Medicine Research, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China; 3.School of Life Sciences, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the HPLC fingerprint chromatogram of Danzhen headache capsules. METHODS: HPLC method was adopted. The column was Dikma Diamonsil C<sub>18</sub> with the mobile phase of methanol-acetonitrile-water (gradient elution) at the flow rate of 1.0 ml/min; the temperature was 40 ℃, the detection wavelength was 340 nm, the sample size was 20 μl and the detection time was 65 min. RESULTS: RSDs of precision, stability and reproducibility tests were no more than 0.23%; 13 common peaks were identified in 10 batches of Danzhen headache capsules and the similarity of all samples were higher than 0.90. CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reproducible, and can be used for the process stability evaluation and quality control of Danzhen headache capsules.

**KEYWORDS** Danzhen headache capsules; HPLC; Fingerprint chromatogram; Similarity

3分离效果较好,且分离时间适中,因此选用Inertsil OD-3进行色谱分离。

### 3.2 提取方法的选择

笔者比较了3种提取方法(索氏提取除杂再进行超声、先超声再进行萃取除杂、直接超声),结果发现3种方法均对被测成分无干扰且可较好地分离,考虑到操作的简便性,故选用直接超声法。此外,还考察了不同溶剂(甲醇、70%甲醇、50%甲醇、乙醇、70%乙醇、50%乙醇)对结果的影响。结果发现,采用70%乙醇与甲醇作为提取溶剂时,栀子苷含量基本一致,均能较好地提取分离栀子苷与甘草苷,考虑到乙醇的毒性小,故选用70%乙醇为提取溶剂。又考察了超声时间(30、45、60、90 min)对结果的影响。结果发现,超声45 min即可提取完全。

综上所述,本方法准确、灵敏、简便,可用于心神宁片中栀子苷和甘草苷的含量测定。

### 参考文献

[1] 郭五保,李彤晖,王卫峰.HPLC测定心神宁片中栀子苷

\* 硕士研究生。研究方向:药材质量标准。E-mail: yuxia10086@126.com

# 通信作者:教授。研究方向:新药研发。E-mail: 1544887338@qq.com

的含量[J].华西药学杂志,2003,18(4):292.

[2] 尹美芝,张瑞华,崔雅慧,等.心神宁片中栀子苷含量影响因素的考察[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(6):52.

[3] 高雪松,王蕾.HPLC-EISD法测定心神宁片中酸枣仁皂苷A和B的含量[J].中国药师,2013,16(1):61.

[4] 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,2010:80.

[5] 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.

[6] 张丽萍.用高效液相色谱法测定安坤颗粒中栀子苷和芍药苷的含量[J].药学实践杂志,2014,32(2):121.

[7] 张科卫,崔晓兵,吴皓.双波长梯度洗脱法测定栀子柏皮汤制剂中栀子苷、甘草苷的含量[J].中成药,2008,30(11):1629.

[8] 胡震,杨广得,罗国安,等.栀子中栀子苷提取工艺及HPLC分析[J].中成药,2006,28(3):336.

(收稿日期:2015-04-02 修回日期:2015-07-29)

(编辑:刘柳)