# HPLC 法测定天麻定眩胶囊中天麻素的含量

李咏梅[1]，廖华卫[2]（1. 广州医科大学附属第五医院，广东 广州 510700；2. 广东药学院中药学院，广东 广州 510006）

**摘要：目的** 建立天麻定眩胶囊中天麻素含量的测定方法。**方法** 采用 Sinchrom ODS-BP（4.6 mm×250 mm，5 μm）色谱柱，乙腈-甲醇-0.05 %磷酸溶液（1∶2∶97）为流动相；检测波长为 220 nm；柱温：40℃；进样体积：10 μL。**结果** 天麻素在 15.09～503 μg·mL$^{-1}$ 范围内具有良好的线性关系（$r$=0.9997）；平均回收率为 99.4 %，RSD=2.52 %（$n$=6）。**结论** 该法简便易行、结果准确、重复性好，可用于天麻定眩胶囊中天麻素的含量测定。

**关键词：** 天麻定眩胶囊；天麻素；高效液相色谱法
**中图分类号：** R284.1 **文献标志码：** A **文章编号：** 1003-9783(2014)03-0343-03
**doi：** 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.03.026

**Determination of Gastrodin in *Tianma Dingxuan* Capsules by HPLC**

LI Yongmei[1], LIAO Huawei[2]（1. The Fifth Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510700 Guangdong, China; 2. Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006 Guangdong, China）

**Abstract: Objective** To develop a high performance liquid chromatography(HPLC) method for the determination of gastrodin in *Tianma Dingxuan* capsules. **Methods** The HPLC method was validated on Sinchrom ODS-BP chromatographic column（4.6 mm×250 mm，5 μm）with a mobile phase of acetonitrile-0.05 % phosphoric acid. The detection wavelength was 220 nm，column temperature at 40℃，and the volume of injection was 10 μL. **Results** The calibration curve of the gastrodin showed good linearity in the range of 15.09～503 μg·mL$^{-1}$（$r$=0.9999）. The average recovery was 99.4 %，and the standard deviation was 2.52($n$=6). **Conclusion** The developed method is simple and with high precision and accuracy，which can be used for the quality control of *Tianma Dingxuan* capsules.

**Keywords:** *Tianma Dingxuan* capsules; Gastrodin; HPLC

天麻定眩胶囊为天麻、葛根、川芎等组成的复方胶囊剂，具有平肝熄风、定眩止晕的功效[1]。天麻为方中君药，主要含酚类化合物及苷类、有机酸类、甾醇类、含氮类及多糖类等成分。天麻素为天麻的主要成分之一，其结构明确，参考《中华人民共和国药典》(一部)2010 版天麻药材标准[2]，选择天麻素作为检测指标建立高效液相色谱含量测定方法，拟建立本品的质控标准。

## 1 仪器与试药

Dionex 高效液相色谱仪，美国戴安公司。天麻素对照品，中国药品生物制品检定所，批号：110807-201306；天麻定眩胶囊，海韵药业，批号：131001，131002，131003；乙腈，色谱纯；水，纯化水，其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Sinchrom ODS-BP(4.6 mm×250 mm，5 μm)色谱柱，乙腈-甲醇-0.05 %磷酸溶液(1∶2∶97)为流动相，检测波长为 220 nm，流速为 1 mL·min$^{-1}$，柱温 40 ℃，进样体积为 10 μL，理论板数按天麻素峰计算应不低于 3000。

**收稿日期：** 2014-01-04
**作者简介：** 李咏梅，女，副主任药师，研究方向：医院药学。Email：liyongmei_gz@126.com。

**2.2 对照品溶液制备**　取天麻素对照品适量，精密称定，加流动相制成每 1 mL 含 0.05 mg 的溶液，即得。

**2.3 供试品溶液制备**　取装量差异项下的本品适量，研细，取约 0.4 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 20 mL，密塞，称定质量，超声处理 60 min（功率 250 W，频率 40 kHz），静置 24 h，振摇，再超声处理 60 min（功率 250 W，频率 40 kHz），放冷，再称定质量，用甲醇补足减失质量，摇匀，滤过，精密量取续滤液 10 mL，浓缩至约 2 mL，注入中性氧化铝柱（100～200 目，4 g，内径 1.5 cm），用 80 %甲醇 50 mL 洗脱，收集洗脱液，蒸干，残渣用流动相溶解，转移至 10 mL 量瓶中，摇匀，即得。

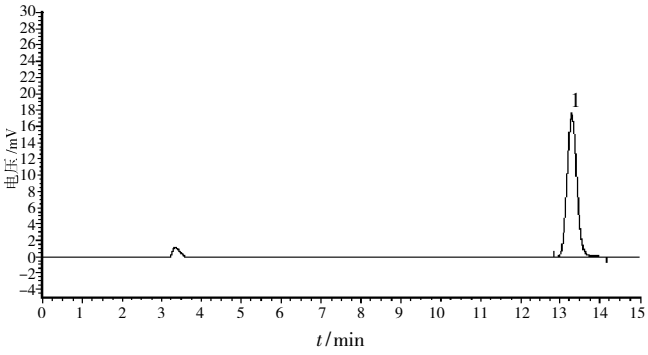
**2.4 空白干扰性试验**　见图 1。照本品处方量，按 2.3 项下方法制成缺天麻素的阴性供试品溶液。精密吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性供试品溶液各 10 μL，分别注入液相色谱仪，按上述色谱条件进行测定，记录色谱图，结果显示阴性供试品溶液色谱图在天麻素对照品色谱峰相应位置上未出现色谱峰，说明阴性样品无干扰。

**2.5 线性试验**　精密称取天麻素对照品适量，加流动相制成每 1mL 含 0.503 mg 的对照品贮备液。精密量取上述对照品贮备液 0.3，1.0，2.0，3.0，5.0 mL，分别置 10 mL 量瓶中，加流动相稀释至刻度，摇匀，分别精密吸取上述对照品梯度溶液及对照品贮备液各 10 μL，注入液相色谱仪，按含量测定方法测定，以对照品浓度为横坐标，测得的峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，得回归方程：$Y$=0.281$X$+0.0516，相关系数($r$)=0.9997。表明天麻素对照品浓度在 15.09～503 μg·mL$^{-1}$ 之间与其峰面积呈良好的线性关系。

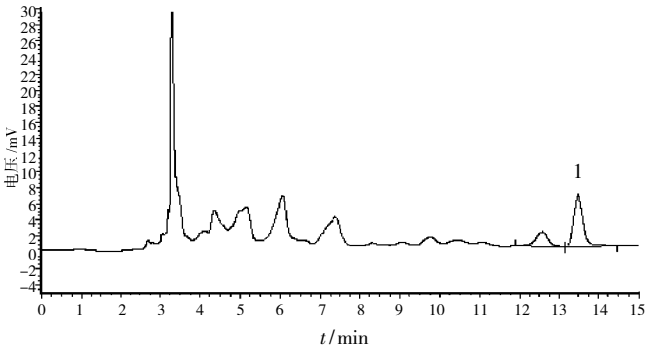
**2.6 精密度试验**　精密吸取浓度为 50.3 μg·mL$^{-1}$ 的天麻素对照品溶液 10 μL，重复进样 6 次，测定峰面积，计算 RSD=0.65 %。

**2.7 稳定性试验**　见表 1。按 2.3 项方法配制供试品溶液，平行测定 2 次天麻素的含量，将供试品溶液分别贮存在室温与冰箱冷藏室（4 ℃）中，在 1，2，3，5，7 d，分别平行测定 2 次天麻素的含量。天麻素各个时间点测定的含量值均不大于 0 天含量值 ± 5.0 %，表明供试品溶液在 7 d 内稳定。

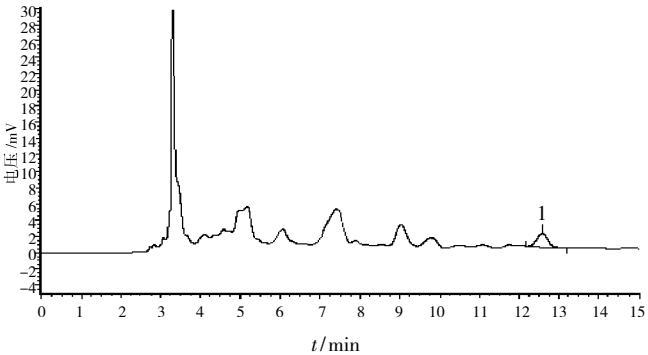
**2.8 重复性试验**　取同一批号的天麻定眩胶囊样品 6 份，按 2.3 项下方法制备溶液，进行测定，计算得天麻素的含量分别为 0.801，0.823，0.814，0.828，0.814，0.798 mg·g$^{-1}$，平均含量为 0.813 mg·g$^{-1}$，RSD=1.45 %。



A. 天麻素对照品



B. 样品



C. 缺天麻素阴性对照品

1. 天麻素

**图 1　天麻素对照品（A）、样品（B）、缺天麻素阴性对照品（C）的 HPLC 色谱图**

Figue 1　HPLC graphs of gastrodin reference substance (A), *Tianma Dingxuan* capsules(B), negative sample without Gastrodiae Rhizoma(C)

**表 1　供试品溶液稳定性试验结果**

Table 1　Results of stability of sample solution

| 时间 | 室温 | | 低温 | |
|---|---|---|---|---|
| | 天麻素 /mg·g$^{-1}$ | 含量变化值 / mg·g$^{-1}$ | 天麻素 /mg·g$^{-1}$ | 含量变化值 /mg·g$^{-1}$ |
| 0 d | 0.811 | / | 0.811 | / |
| 1 d | 0.815 | 0.004 | 0.809 | −0.002 |
| 2 d | 0.818 | 0.007 | 0.811 | 0 |
| 3 d | 0.809 | −0.002 | 0.811 | 0 |
| 5 d | 0.811 | 0 | 0.814 | 0.003 |
| 7 d | 0.813 | 0.002 | 0.808 | −0.003 |

注：0 天含量值 ± 5.0 %为 0.770~0.852 mg·g$^{-1}$。

**2.9 加样回收率试验** 见表 2。分别精密称取已知含量为 0.813 mg·g$^{-1}$ 的样品 0.2 g，分别精密加入天麻素对照品溶液(7.51 mg·mL$^{-1}$)20 mL，即 0.1502 mg，按“2.3”项下方法制备溶液，测定其峰面积，进行计算回收率。结果平均回收率为 99.4 %，RSD=2.52 %($n$=6)。

**表 2 天麻素加样回收率试验结果($n$=6)**

Table 2 Results of recovery test for gastrodin

| 试验序号 | 样品含量 /mg | 对照品加入量 /mg | 测定总量 /mg | 回收率 /% | 平均值 /% | RSD /% |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0.1719 | 0.1502 | 0.3241 | 101.3 | | |
| 2 | 0.1611 | 0.1502 | 0.3107 | 99.60 | | |
| 3 | 0.1663 | 0.1502 | 0.3097 | 95.47 | 99.4 | 2.52 |
| 4 | 0.1620 | 0.1502 | 0.3156 | 102.3 | | |
| 5 | 0.1759 | 0.1502 | 0.3225 | 97.60 | | |
| 6 | 0.1633 | 0.1502 | 0.3138 | 100.2 | | |

**2.10 样品测定** 见表 3。按拟定的含量测定方法测定 3 批样品中天麻素的含量。

**表 3 样品含量测定结果**

Table 3 Content determination results of samples

| 序号 | 批号 | 天麻素 /mg |
|---|---|---|
| 1 | 131001 | 0.174 |
| 2 | 131002 | 0.171 |
| 3 | 131003 | 0.165 |

注：所测结果为每粒天麻定眩胶囊中天麻素的含量。

## 3 讨论

采用《中华人民共和国药典》(一部)2010 年版中天麻药材含量测定项下流动相进行测定时，天麻素峰与相邻杂质峰分离度小于 1.5，不符合要求；对流动相中的有机相乙腈的比例进行调整，天麻素峰与相邻杂质峰均不能达到基线分离；故将有机相更改为甲醇，仍然无法将天麻素峰与相邻杂质峰有效分离；再将有机相改为乙腈与甲醇配比，当两者与 0.05 %磷酸溶液比例为 1∶2∶97 时，天麻素峰与相邻杂质峰的分离度可达 2.0 以上，主峰保留时间适中，色谱峰峰形对称性好，理论板数按天麻素峰计算可达 5000 以上。

采用超声法提取天麻定眩胶囊中所含的天麻素时，由于组方较为复杂，测定干扰较大，天麻素与相邻杂质分离效果不理想[3-6]。因此将本品过中性氧化铝柱，并以 80 %甲醇为洗脱溶剂，以除去干扰杂质。结果表明本法有效地减少了供试品液中的杂质量，使天麻素的测定不受干扰，方法可行。

方法学研究结果表明，本法操作简便，结果准确，重复性好，能有效控制天麻定眩胶囊的质量。

**参考文献：**

[1] 李继英. 定眩止晕汤[J]. 江苏中医药，2011，43(6)：14.
[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典（一部)[M]. 北京：中国医药科技出版社，2010：54.
[3] 周立，万丽，叶娉，等. 加味天麻胶囊中天麻素的含量测定[J]. 湖南中医药大学学报，2007，27：245-246.
[4] 刘平，智冰冰. 高效液相色谱法测定天麻片中天麻素的含量[J]. 河南中医学院学报，2008，11(6)：32-33.
[5] 刘建康，黄伟，杨艺. 不同提取方法研究天麻中天麻素的含量[J]. 亚太传统医药，2009，5(10)：20-23.
[6] 陈运玖，赵亮，周文. HPLC 测定静痛灵胶囊中天麻素的含量[J]. 食品与药品，2010，12(3)：112-114.

(编辑：邓响潮)

# 茜草中大叶茜草素、羟基茜草素含量测定方法优化的实验研究

林文华[1]，朱喜梅[1]，严 萍[1]，詹若挺[1]，潘华峰[2]，刘翠婷[1]，张 洁[1](1. 广州中医药大学中药资源科学与工程研究中心、岭南中药资源教育部重点实验室，广东 广州 510006；2. 广州中医药大学，广东 广州 510006)

**摘要：目的** 优化茜草中大叶茜草素、羟基茜草素的 HPLC 含量测定方法。**方法** 采用 LUBEX Ecosil $C_{18}$ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm，5 μm)，流动相为甲醇-乙腈-0.05 %磷酸水(25∶50∶25)，流速 1.0 mL·min$^{-1}$，检测波

**收稿日期**：2013-11-04
**作者简介**：林文华，女，硕士研究生，研究方向：中药质量评价新技术、新方法。Email：lwh6436@163.com。通讯作者：严萍，副研究员，研究方向：中药质量评价研究。Email：ycyyp22@163.com。潘华峰，研究员，研究方向：中医院特色医疗发展与社区卫生管理。Email：gzphf@gzucm.edu.cn。
**基金项目**：教育部 2011 年博士点基金(20114425120010)；广东省教育部科技部产学研结合项目(2011A091000005)。