

HPLC同时测定软坚消癭颗粒中芍药苷、阿魏酸、橙皮苷

樊晖, 田原*

(辽宁中医药大学附属医院, 沈阳 110032)

[摘要] 目的:建立软坚消癭颗粒中芍药苷、阿魏酸、橙皮苷的含量测定方法,为其质量标准的建立提供依据。方法:采用高效液相色谱波长切换法同时测定芍药苷、阿魏酸、橙皮苷含量,Agilent TC-C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈-0.2%冰醋酸(18:82),流速1.0 mL·min⁻¹,柱温25℃,检测波长0~12 min为230 nm,12~20 min为325 nm,20~40 min为283 nm。结果:3种活性成分实现良好分离,芍药苷在0.061 7~1.541 7 mg线性关系良好, $r=0.999 9$,平均回收率为97.25%,RSD 1.45%;阿魏酸在0.005 9~0.146 7 mg线性关系良好, $r=0.999 7$,平均回收率为98.66%,RSD 1.45%;橙皮苷在0.136 7~3.416 7 mg线性关系良好, $r=0.999 6$,平均回收率为97.55%,RSD 1.92%。结论:该方法简便、准确、可靠,重复性好,为控制软坚消癭颗粒的质量提供依据。

[关键词] 软坚消癭颗粒; 芍药苷; 阿魏酸; 橙皮苷; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)20-0077-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2014200077

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140829.1415.010.html>

[网络出版时间] 2014-08-29 14:15

Determination of Paeoniflorin, Ferulic Acid and Hesperidin in Ruanjian Xiaoying Granules by HPLC

FAN Hui, TIAN Yuan*

(Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110032, China)

[Abstract] **Objective:** The aim of this study was to establish a method to determine paeoniflorin, ferulic acid and hesperidin in Ruanjian Xiaoying granules. **Method:** The chromatographic separation was performed on Agilent TC-C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm) column. The mobile phase was acetonitrile-0.2% acetic acid (18:82). The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ and column temperature was maintained at 25℃. The detection wavelength was set at 230 nm within 0-12 min, 325 nm within 12-20 min, 283 nm within 20-40 min. **Result:** The three compounds were separated well. The linear ranges of paeoniflorin, ferulic acid and hesperidin were 0.061 7-1.541 7 mg ($r=0.999 9$, average recovery was 97.25%, RSD 1.45%), 0.005 9-0.146 7 mg ($r=0.999 7$, average recovery was 98.66%, RSD 1.45%) and 0.136 7-3.416 7 mg ($r=0.999 6$, average recovery was 97.55%, RSD 1.92%). **Conclusion:** The method is rapid, simple and accurate, and can be used for quality control of Ruanjian Xiaoying granules.

[Key words] Ruanjian Xiaoying granules; paeoniflorin; ferulic acid; hesperidin; HPLC

软坚消癭颗粒为辽宁中医药大学附属医院名老中医经验方,由当归、陈皮、赤芍、莪术、浙贝母、柴胡、昆布等8味药组成,方中当归补血活血,陈皮理

气化痰,柴胡疏肝解郁,配伍赤芍散瘀止痛,浙贝母、莪术、昆布等软坚散结,共奏化痰、活血、软坚的功效,用于治疗甲状腺炎等疾病,具有良好的疗效。由

[收稿日期] 20140418(007)

[基金项目] 沈阳市科学技术计划项目(F10-149-9-11)

[第一作者] 樊晖,硕士,主管中药师,从事中药制剂分析与新药开发研究,Tel:024-31961931,E-mail:fanhuilnyz@qq.com

[通讯作者] *田原,学士,副主任药师,从事中药制剂分析与新药开发研究,Tel:024-31961931,E-mail:254276239@qq.com

于中药复方的疗效是多种成分共同作用的结果,采用单一成分作为指标不能全面控制复方的内在质量,因此,根据方中所含成分理化性质,结合君臣佐使,经过反复摸索,最终以赤芍、当归、陈皮的主要成分芍药苷、阿魏酸、橙皮苷为指标性成分,采用 HPLC 对 3 种成分含量进行同时测定,可为软坚消瘿颗粒质量控制提供依据。

1 材料

1100 系列高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司),AE-240 型电子分析天平(上海梅特勒-托利多仪器上海有限公司),KH-400DB 型超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司)。

阿魏酸(110773-201012)、橙皮苷(110721-201115)、芍药苷(110736-201136)对照品购自中国食品药品检定研究院。高效液相用乙腈为色谱纯,水为娃哈哈纯净水,冰醋酸等其他试剂为分析纯。供试品软坚消瘿颗粒由辽宁中医药大学附属医院中医药实验中心自制,批号分别为 20121101,20121102,20121201,20121202,20121203。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent TC-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.2% 冰醋酸(18:82),检测波长 0~12 min 为 230 nm,12~20 min 为 325 nm,20~40 min 为 285 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 25 ℃。

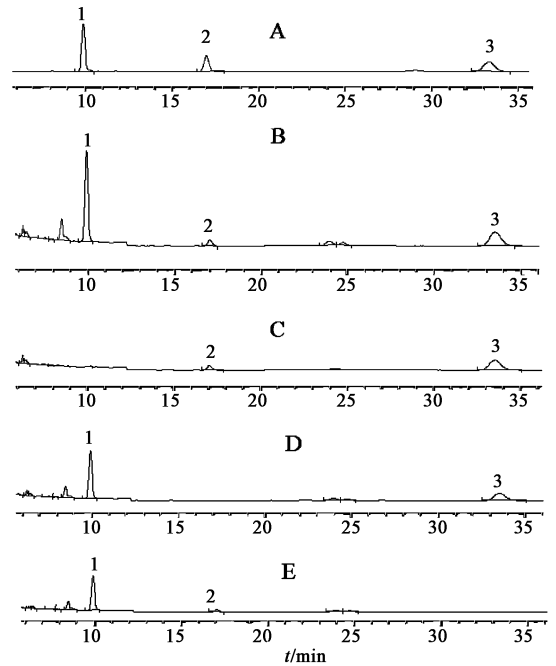
2.2 对照品溶液制备 取阿魏酸对照品适量,精密称定,置量瓶中,加入 70% 甲醇定容,制成每 1 mL 含 0.017 6 mg 阿魏酸对照品溶液;取芍药苷、橙皮苷对照品适量,精密称定,置量瓶中,加入甲醇定容,制成每 1 mL 含 0.185 mg 芍药苷,0.41 mg 橙皮苷的对照品溶液;精密吸取上述对照品溶液,等比例混合,备用。

2.3 供试品溶液制备 取本品适量,研细,取约 1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 70% 甲醇 25 mL,称定质量,超声提取 30 min,放置至室温,再称定质量,加 70% 甲醇补充减失的质量,摇匀,静置,取上清液,过滤,取续滤液,即得。

2.4 阴性对照溶液制备 按处方及工艺制备成不含当归的颗粒剂,再按 2.3 项下方法制备当归阴性对照溶液;同法制成陈皮阴性对照溶液和赤芍阴性对照溶液备用。

2.5 测定法 分别精密吸取上述溶液各 5 μL,注入高效液相色谱仪,记录色谱图。由色谱图可知,供试品在与对照品色谱峰相应的位置上,具有相同保

留时间的色谱峰,阴性液无干扰,见图 1。



A. 混合对照品; B. 供试品; C. 缺赤芍阴性样品;
D. 缺当归阴性样品; E. 缺陈皮阴性样品;
1. 芍药苷; 2. 阿魏酸; 3. 橙皮苷

图 1 软坚消瘿颗粒 HPLC

2.6 线性范围考察 分别精密吸取混合对照品溶液 1.0, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0, 25.0 μL, 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 进样量 X(mg) 与色谱峰面积 Y 经线性回归, 得芍药苷、阿魏酸、橙皮苷回归方程分别为 $Y = 1416.6X + 7.86, r = 0.9999$; $Y = 6815.0X + 10.24, r = 0.9997$; $Y = 459.51X - 19.40, r = 0.9996$, 线性范围分别为 0.0617~1.5417, 0.0059~0.1467, 0.1367~3.4167 mg。

2.7 精密度试验 精密吸取同一混合对照品溶液 5 μL, 连续进样 5 次, 结果芍药苷峰面积 RSD 1.7%; 阿魏酸峰面积 RSD 2.5%, 橙皮苷峰面积 RSD 1.0%, 表明本法精密度良好。

2.8 重复性试验 取本品(批号为 20121101) 6 份, 按 2.3 项方法制备成供试品溶液, 测定芍药苷、阿魏酸、橙皮苷含量, 结果芍药苷平均质量分数为 0.44%, RSD 2.4%, 阿魏酸平均质量分数为 0.0063%, RSD 3.4%, 橙皮苷平均质量分数为 0.61%, RSD 1.9%, 表明本法重复性良好。

2.9 稳定性试验 取同一供试品溶液(批号 20121101), 分别于 0, 2, 4, 6, 8 h 测定峰面积, 结果芍药苷峰面积 RSD 1.7%; 阿魏酸峰面积 RSD 2.1%, 橙皮苷峰面积 RSD 1.4%, 表明本供试品溶

液8 h内稳定。

2.10 加样回收率试验 精密称取已知量的样品(批号20121101) 0.5 g,共计6份,分别精密加入芍药苷对照品溶液1 mL(2.23 g·L⁻¹)、阿魏酸对照品溶液1 mL(0.032 g·L⁻¹)、橙皮苷对照品溶液1 mL(3.12 g·L⁻¹),按2.3项下操作,进行含量测定,计算回收率,结果见表1。

表1 软坚消癭颗粒中芍药苷、橙皮苷、阿魏酸的加样回收率试验

化合物	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
芍药苷	2.206	2.23	4.355	96.34	97.25	1.45
	2.216	2.23	4.341	95.29		
	2.234	2.23	4.400	97.12		
	2.213	2.23	4.402	98.15		
	2.226	2.23	4.442	99.35		
	2.199	2.23	4.368	97.26		
阿魏酸	0.0316	0.032	0.0634	99.45	98.66	1.45
	0.0317	0.032	0.0637	100.02		
	0.0320	0.032	0.0640	99.89		
	0.0317	0.032	0.0628	97.25		
	0.0319	0.032	0.0635	98.74		
	0.0315	0.032	0.0624	96.58		
橙皮苷	3.0586	3.12	6.1306	98.46	97.55	1.92
	3.0720	3.12	6.0410	95.16		
	3.0973	3.12	6.1090	96.53		
	3.0678	3.12	6.0780	96.48		
	3.0860	3.12	6.1502	98.21		
	3.0488	3.12	6.1828	100.45		

2.11 样品测定 按上述样品供试液制备方法 & 色谱条件,对5批样品中进行含量测定,结果见表2。

表2 软坚消癭颗粒中芍药苷、橙皮苷、阿魏酸的含量测定(n=5) %

批号	芍药苷	RSD	阿魏酸	RSD	橙皮苷	RSD
20121101	0.43	1.7	0.0061	2.3	0.59	1.1
20121102	0.45	2.1	0.0069	3.4	0.63	1.2
20121201	0.42	2.2	0.0058	2.8	0.65	1.6
20121202	0.41	1.3	0.0064	2.9	0.58	2.5
20121203	0.46	1.6	0.0062	3.0	0.60	2.3

3 讨论

3.1 流动相的选择 检测芍药苷、阿魏酸、橙皮苷的流动相有乙腈-磷酸系统、甲醇-磷酸二氢钾系统、

乙腈-醋酸系统等^[1-5],笔者对以上各系统都进行了比较,结果发现乙腈-0.2%冰醋酸(18:82)系统能使色谱峰对称性较好,方法学考察合理,3种成分分离度及保留时间都较为理想。

3.2 检测波长的选择 所用高效液相色谱仪配置了DAD检测器,利用DAD检测器可以转换检测波长的功能,实现了3种成分的同时检测。利用DAD检测器可以进行光谱测定的功能,在200~400 nm波长分别扫描芍药苷、阿魏酸、橙皮苷对照品,结果芍药苷最大吸收波长230 nm,橙皮苷285 nm,阿魏酸325 nm。因此检测波长确定为芍药苷230 nm,阿魏酸为325 nm,橙皮苷为285 nm。

3.3 提取方法的选择 本试验分别考察了以甲醇、70%甲醇、50%甲醇、50%乙醇作为提取溶剂进行超声提取的方法,结果发现以甲醇作为溶剂时,芍药苷含量明显低于其他溶剂,而以70%甲醇、50%甲醇、50%乙醇作为溶剂,3种成分含量几乎一致,以50%甲醇、50%乙醇为溶剂时,用微孔滤膜过滤非常困难,因此最后采用70%甲醇为提取溶剂。另外还考察了超声法、回流法对含量的影响,结果超声30 min即可使成分完全溶出。

当归、陈皮、赤芍(或白芍)是中药复方中经常使用的配伍,本试验采用HPLC同时测定药材中3种有效成分的含量,方法简便易行,结果可靠,为复方中同时控制3种药材质量提供依据。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:124.
 [2] 刘小丽,石丽,李华. 川芎药材 HPLC 指纹图谱及阿魏酸测定研究[J]. 中成药,2011,33(8):1289.
 [3] 代丽萍,谢小龙,鲁艳清,等. HPLC 测定丹芍方提取物中丹皮酚、芍药苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(17):127.
 [4] 李向阳,屠万倩. RP-HPLC 法测定六味地黄丸中丹皮酚、芍药苷和乌苏酸[J]. 中成药,2012,34(2):277.
 [5] 王洪志,乔晓莉,刘勇,等. 高效液相色谱法测定复方承气颗粒中芍药苷和橙皮苷的含量[J]. 天津药学,2012,24(6):9.

[责任编辑 顾雪竹]