

# HPLC 测定利胆止痛胶囊中芍药苷的含量

王明星\*, 于秀华, 刘永强  
(长春中医药大学附属医院, 吉林 130021)

**[摘要]** 目的:提高利胆止痛胶囊质量标准,增加含量测定项以对药品进行更好的质量控制。方法:采用 HPLC 对制剂方中赤芍进行含量测定。安捷伦 Agilent Extend-C<sub>18</sub>(4 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱,流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液(15:85),检测波长 230 nm,流速 1 mL·min<sup>-1</sup>,理论板数按芍药苷峰计算应不低于 4 000。结果:芍药苷在 0.144 ~ 0.720 μg 呈良好的线性关系,精密密度试验 RSD 0.54%,样品在 24 h 内基本稳定(RSD 1.17%),重复性试验 RSD 1.48%,平均加样回收率为 97.77% (RSD 1.48%)。依正文方法进行了 10 批样品的含量测定,利胆止痛胶囊芍药苷的平均含量 0.772 0 mg/粒。结论:该方法专属性强,灵敏度高、重复性好,可用于该制剂的质量控制。

**[关键词]** 利胆止痛胶囊; 芍药苷; HPLC

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)22-0142-03

## Determination of Paeniflorin Content in Lidan Zhitong Capsules by HPLC

WANG Ming-xing\*, YU Xiu-hua, LIU Yong-qiang

(The Affiliated Hospital to Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130021, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a HPLC method for determining paeoniflorin content in Lidan Zhitong

**[收稿日期]** 20120210(005)

**[通讯作者]** \*王明星,助理研究员,硕士,从事中药有效成分及质量标准研究,Tel:0431-86177401,E-mail:horse1106@sohu.com

表 1 欧前胡素加样回收试验

No.	称样量 /g	样品中 含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1	1.027 8	0.707 9	0.740 0	1.436 8	98.5		
2	0.997 3	0.686 9	0.740 0	1.406 9	97.3		
3	1.031 6	0.710 5	0.740 0	1.442 3	98.9	98.0	0.84
4	1.055 9	0.727 3	0.740 0	1.448 8	97.5		
5	1.081 1	0.744 6	0.740 0	1.474 2	98.6		
6	1.014 5	0.698 8	0.740 0	1.415 9	96.9		

### 3 讨论

HPLC 测定欧前胡素含量常用不同比例的甲醇-水系统<sup>[2-5]</sup>,经过试验预试,甲醇-水(62:38)对头痛丸中的欧前胡素的分离效果最好。

曾对比了回流提取、超声提取两种提取方法的

提取效果,发现欧前胡素的回流提取量比超声提取高出 21.4%;对比提取次数时,发现回流 1 次的提取量仅为回流提取 2 次的 66.2%,回流提取 2 次与回流提取 3 次的欧前胡素的含量没有显著行区别,因此选用回流提取 2 次,作为本试验含量测定的供试品溶液制备方法。

### [参考文献]

- [1] 甘业梅,曾玲.川芎药材质量标准研究[J].中国中医药信息杂志,2007,14(11):48.
- [2] 中国药典.一部[S].2010:34.
- [3] 蒋剑,田立江,赵新.复方白芷乳膏中欧前胡素的高效液相色谱法测定[J].新疆中医药,2005,23(3):9.
- [4] 彭菲,张胜,刘塔斯,等.四倍体白芷药材中欧前胡素的含量测定[J].中国中药杂志,2002,27(6):426.
- [5] 温莉萍,王秀兰,郜宁.HPLC 测定通窍鼻炎胶囊中欧前胡素的含量[J].华西药理学杂志,2003,18(1):65.

[责任编辑 顾雪竹]

capsules. **Method:** The content of paeoniflorin from Radix paeoniad rubra was idetermined by HPLC. The Agilent Extend-C<sub>18</sub> column (4 mm × 250 mm, 5 μm) was used with acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (15:85) as mobile phase; the detection wavelength was set at 230 nm; flow rate was 1 mL · min<sup>-1</sup>. Number of theoretical plates by paeoniflorin peak calculation should not be less than 4 000. **Result:** The calibration curve of paeoniflorin was linear in the range of 0.144-0.720 μg. RSD of precision was 0.54%. RSD of stability was 1.17%. RSD of reproducibility was 1.48%. The average recovery was 97.77% with RSD of 1.48%. **Conclusion:** The method is selective and sensitive, can be used for quality of control of Lidan Zhitong capsule.

[Key words] Lidan Zhitong Capsule; paeoniflorin; HPLC

利胆止痛胶囊由柴胡(炒)、赤芍、枳壳(炒)、甘草、茵陈、延胡索、苍术、川楝子等12味中药组成的复方制剂。功能清热利胆、理气止痛,用于肝胆湿热所致的胁痛、黄疸等症。为了更好地控制利胆止痛胶囊的质量,本文用高效液相色谱法对制剂中赤芍(以芍药苷计)进行含量测定。

## 1 仪器与试剂

LC-2010A 高效液相色谱仪(日本岛津),C<sub>18</sub>柱(4 mm × 250 mm,5 μm),SPD-10Avp 检测器,class-VP 色谱工作站;LibrorAEG-200 电子天平(日本岛津);KQ-100 型超声波清洗器(昆山超声仪器公司)。利胆止痛胶囊由吉林靖宇县制药有限公司提供。

芍药苷对照品(批号 110736-200731 购于中国药品生物制品检定所),水为超纯水,乙腈、磷酸为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 安捷伦 Agilent Extend-C<sub>18</sub> 液相色谱柱(4 mm × 250 mm,5 μm),流动相乙腈-0.1%磷酸溶液(15:85),检测波长 230 nm,流速 1 mL · min<sup>-1</sup>。理论板数按芍药苷峰计算应不低于 4 000。

**2.2 对照品溶液的制备** 称取经五氧化磷减压干燥 36 h 的芍药苷对照品约 10 mg,精密称定,置 25 mL 量瓶,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,精密吸取 5 mL,置 50 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,即得(每 1 mL 含 0.036 mg 芍药苷)。

**2.3 供试品溶液的制备** 取装量差异项下的本品内容物 0.8 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加甲醇 50 mL,超声处理(功率 100 W,频率 40 kHz)1 h,滤过,滤液蒸干,残渣加水 20 mL,用乙醚提取 3 次,每次 20 mL,弃去乙醚液,用水饱和的正丁醇提取 5 次,每次 20 mL,合并提取液,蒸干,残渣加水 10 mL,氨试液 1.5 mL 使其溶解,上已处理好的 D<sub>101</sub> 大孔树脂柱(内径 1.6 cm,柱高 18 ~ 20 cm),用水 120 mL 洗脱,弃去,再用稀乙醇 130 mL 洗脱,收集洗脱液,

蒸干,残渣加稀乙醇溶于 50 mL 量瓶中,并用稀乙醇稀释至刻度,摇匀,即得。

**2.4 空白试验** 按制备工艺及处方比例,制备不含芍药苷的阴性对照品,按供试品溶液的制备方法,制备阴性对照液,对色谱图可见芍药苷的测定无干扰。

**2.5 标准曲线的制备** 精密吸取芍药苷对照品溶液 4,8,12,16,20 μL,注入液相色谱仪,测定,以峰面积积分为纵坐标,以芍药苷进样量为横坐标,绘制标准曲线,其回归方程为  $Y = 701\ 532.432\ 6X - 4\ 620.035\ 88$  ( $r = 0.999\ 9$ ),芍药苷在 0.144 ~ 0.720 μg 呈良好的线性。

**2.6 精密度试验** 取同一芍药苷对照品溶液进样 5 次,进样量 10 μL,峰面积的积分值基本一致,RSD 0.54%。

**2.7 稳定性试验** 取供试品溶液,分别在制备后的 0,4,8,12,24 h 测定,进样量为 10 μL,结果表明:供试品溶液在 24 h 以内基本稳定,RSD 1.17%。

**2.8 重复性试验** 取同一批号的样品,分别按供试品溶液制备方法制备 5 份,每粒中芍药苷的含量分别为 0.770 7,0.755 4,0.782 2,0.765 2,0.755 3 mg/粒,RSD 1.48%。

**2.9 回收率试验** 取已知含量的样品,样品中芍药苷的含量为 0.755 2 mg/粒(平均装量 0.4 g/粒。取装量差异下本品内容物 0.4 g,精密称定,置锥形瓶中,分别精密加入芍药苷对照品溶液(0.43 g · L<sup>-1</sup>)2 mL,以下依正文方法测定,结果见表 1。

平均回收率为 97.77%。通过方法学考察说明本含量测定方法精密性、稳定性及重复性好,此方法可行。

**2.10 样品的含量测定及其限度的确定** 测定 10 批样品的含量,结果为 0.71 ~ 0.85 mg/粒。

## 3 讨论

曾考察过回流法,取本品内容物约 0.8 g,精密称定,加甲醇 50 mL,回流提取 1 h,滤过,滤液蒸干,残渣加水 20 mL 使溶解,用乙醚提取 3 次,每次 20

表 1 芍药苷加样回收率试验

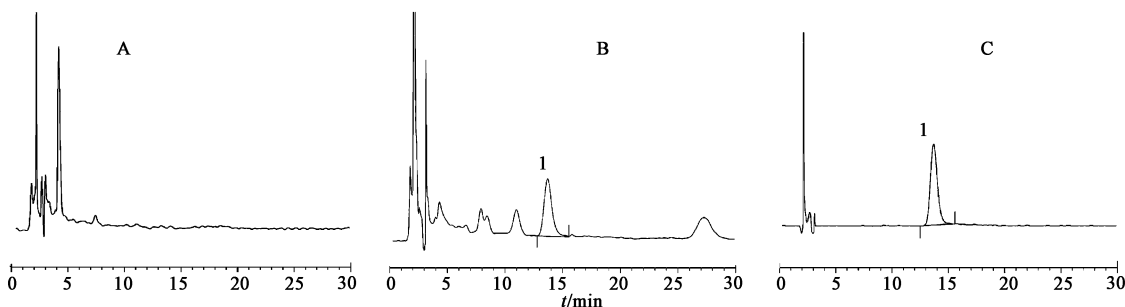
称样量 /g	已知含量 /mg	测得值 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.454 6	0.858 3	1.675 8	95.06		
0.424 8	0.802 0	1.642 3	97.71		
0.459 4	0.867 3	1.727 <sup>1)</sup>	99.96	97.77	1.48
0.436 5	0.824 1	1.650 5	96.09		
0.428 5	0.809 0	1.660 6	99.02		
0.441 5	0.833 6	1.682 9	98.76		

注:加入量均为 0.86 mg.

mL, 弃去, 再用水饱和正丁醇提取 5 次, 每次 20 mL, 合并提取液, 蒸干, 残渣加水 10 mL, 氨试液 1.5 mL 使残渣溶解, 上已处理好的 D<sub>101</sub> 大孔树脂柱 (内径 1.6 cm, 柱高 18 ~ 20 cm), 用水 120 mL 洗脱, 弃去,

再用稀乙醇 130 mL 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣加稀乙醇溶于 50 mL 量瓶中, 并用稀乙醇稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。又采用正文中超声的方法提取。吸 2 种供品溶液同样量, 依正文色谱条件测定, 其结果回流法芍药苷的含量略高于超声法, 但杂质多, 分离不好, 故采用超声法。

**3.3 色谱条件的选择** 曾用大连依利特、迪马和安捷伦不同公司的 C<sub>18</sub> 色谱柱对样品进行了分离, 安捷伦公司的 AgilentExtend-C<sub>18</sub> 柱效最高, 使用时间最长, 故选用了 AgilentExtend-C<sub>18</sub> 柱。选择过不同流动相体系如甲醇-水、乙腈-水、甲醇-磷酸、乙腈-磷酸, 这几种流动相体系均可使芍药苷得到分离, 但乙腈-磷酸的分离效果最好, 理论板数最高, 故确定乙腈-0.1% 磷酸溶液 (15:85) 为流动相。因芍药苷对照品在 230 nm 有最大吸收峰, 并且其他杂质在此吸收波长时干扰最小, 故选择检测波长为 230 nm。



A. 缺赤芍阴性; B. 样品; C. 对照品; 1. 芍药苷

图 1 利胆止痛胶囊 HPLC

[参考文献]

[1] 中国药典. 一部[S]. 2010.  
[2] 郑虎占. 中药现代研究与应用[M]. 北京, 2002:2132.  
[3] 孙文基. 天然药物成分定量分析[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2003:338.  
[4] 俞敬波, 章军, 王文全, 等. 赤芍野生品与栽培品 4 种化学成分含量的比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(18):107.  
[5] 熊野娟, 谢琴. 复方补骨脂颗粒的质量标准研究[J].

中国实验方剂学杂志, 2009, 15(7):23.

[6] 李萍, 程世琼, 周佳, 等. HPLC 测定肠易通栓中芍药苷的含量[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(17):1816.  
[7] 杨颖, 戚爱棣. HPLC 法测定补肾调冲颗粒Ⅲ号中芍药苷的含量[J]. 现代中药研究与实践, 2008, 22(1):48.  
[8] 陈进成. 疏肝健脾方芍药苷含量测定与治疗肝郁脾虚型不孕症临床疗效观察[D]. 石家庄: 河北科技大学, 2011.

[责任编辑 顾雪竹]