

芪天胶囊中红景天苷和芍药苷的含量测定

王巧梅¹, 薛桂蓬², 邢建国^{2*}, 陈丹丹³

(1. 石河子大学药学院 新疆特种植物资源重点实验室, 石河子 832002;

2. 新疆药物研究所, 乌鲁木齐 832002; 3. 新疆医科大学, 乌鲁木齐 830004)

[摘要] 目的: 建立 HPLC 测定芪天胶囊中红景天苷和芍药苷含量的方法。方法: 采用 Kromasil ODS-1 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为甲醇 (A)-0.02 mol·L⁻¹ 磷酸 (B), 梯度洗脱 [0~15 min, 19% A; 15~50 min, 19~28% A; 50~60 min, 28% A] 分段变波长测定, 0~25 min, 275 nm (测红景天苷), 26~60 min, 230 nm (测芍药苷); 柱温 35 °C, 流速 1.0 mL·min⁻¹。结果: 两种成分的线性关系良好, 精密性、稳定性、重复性的 RSD 均 < 3%, 平均加样回收率分别为 98.33%, 97.77%。结论: 该方法简单, 灵敏、准确。可用于芪天胶囊的质量控制。

[关键词] 芪天胶囊; 高效液相色谱; 红景天苷; 芍药苷

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)01-0088-04

HPLC Determination of Salidroside and Paeoniflorin in Compound Qitian Capsules

WANG Qiao-mei¹, XUE Gui-peng², XING Jian-guo^{2*}, CHEN Dan-dan³

(1. Laboratory of Xinjiang Phytomedicine Resources, Pharmaceutical College of Shihezi University,

Shihezi 832002, China; 2. Xinjiang Institute of Materia Medica, Urumqi 830002, China;

3. Xinjiang Medical University, Urumqi 830004, China)

[Abstract] **Objective:** To describe a method for determining of salidroside and paeoniflorin in compound Qitian capsules by HPLC. **Method:** The determination was carried out over a COSMOSIL column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) at the temperature (35 °C). The mobile phase consisted of methanol (A) -0.02% phosphoric (B) solution with the gradient elution (0-15 min, 19%; 15-50 min, 28% A; 50-60 min, 28% A, the flow rate: 1 mL·min⁻¹ and the detection wavelength was set at 275 nm during 0-25 min and 230 nm during 26-60 min. **Result:** Two regression equation showed good linear relationship between the peak area ratio of each marker to internal standard and amounts. The average recovery of salidroside was 98.33% (RSD 0.71%), of paeoniflorin was 97.77% (RSD 1.18%). **Conclusion:** The method is simple, accurate, sensitive, and can be used for determination of two components in Qitian capsules with satisfactory accuracy and repeatability.

[Key words] Qitian capsules; HPLC; salidroside; paeoniflorin

芪天胶囊为新疆一老中医多年临床经验方,由黄芪、赤芍、红景天、红花四味药材组成,具有益气活

血、养心通脉、化瘀止痛,用于气虚血瘀所致的冠心病心绞痛,现已获得国家专利。芪天胶囊系在《医林改错》中传统名方“补阳还五汤”的基础上,针对胸痹心痛“气虚血瘀”基本病机,结合藏药红景天对冠心病心绞痛的疗效优势,中医理论与藏药经验有机结合,以充分发挥民族医药的疗效优势为出发点^[1-3]。以益气活血立法,结合临床研究和现代药理研究结果,精选药味,加减化裁,取“补阳还五汤”之君药“黄芪”大补元气、臣药“赤芍”行血散瘀止

[收稿日期] 20120706(012)

[基金项目] 新疆维吾尔自治区重大科技专项(201130105-3)

[第一作者] 王巧梅, 硕士研究生, Tel: 0991-2318172

[通讯作者] * 邢建国, 研究员, 硕士生导师, 从事中药民族药新制剂与新剂型研究, Tel: 0991-2300682, E-mail: xjguodd@163.com

痛、使药“红花”活血祛瘀、强心通络,辅以藏药“红景天”扶正固本、补血养心。工艺为:黄芪、红景天、赤芍三味药材合并选用65%乙醇10倍量回流提取两次,每次1h,红花单独提取,纯化后加辅料,填装胶囊,形成芪天胶囊。本研究采用梯度洗脱同时测定方中红景天苷和芍药苷的含量。

1 仪器与试药

PE2000型高效液相色谱仪(二元泵自动进样系统,紫外/可见检测器,Totalchrom色谱工作站),BS1101S电子天平(北京赛得利斯),GQ-76型管式分离机(上海市离心机机械研究所),BP211D型十万分之一电子天平(Sartorius),沃特浦实验室专用高端超纯水系统(四川沃特尔水处理设备有限公司)。

红景天与赤芍药材均购自安徽省亳州市德昌药业有限公司。对照品红景天苷(批号110818-201005)和芍药苷(批号110736-101035)均由中国药品生物制品检定所提供,芪天胶囊样品(实验室自制,批号20110704);色谱用甲醇为美国Fisher公司产,乙醇(国产药用),磷酸为国产试剂AR级。

Kromasil ODS-1色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇(A)-0.02 mol·L⁻¹磷酸(B),梯度洗脱[0~15 min, 19% A; 19~28% A; 51~60 min 28% A];柱温35℃,流速1.0 mL·min⁻¹;检测波长,275 nm(0~25 min);230 nm(26~60 min);进样量10 μL。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液的制备 取对照品红景天苷、芍药苷适量,精密称定,分别用甲醇配制成每1 mL含红景天苷0.506 mg和每1 mL含芍药苷0.543 mg的对照品溶液,即得。

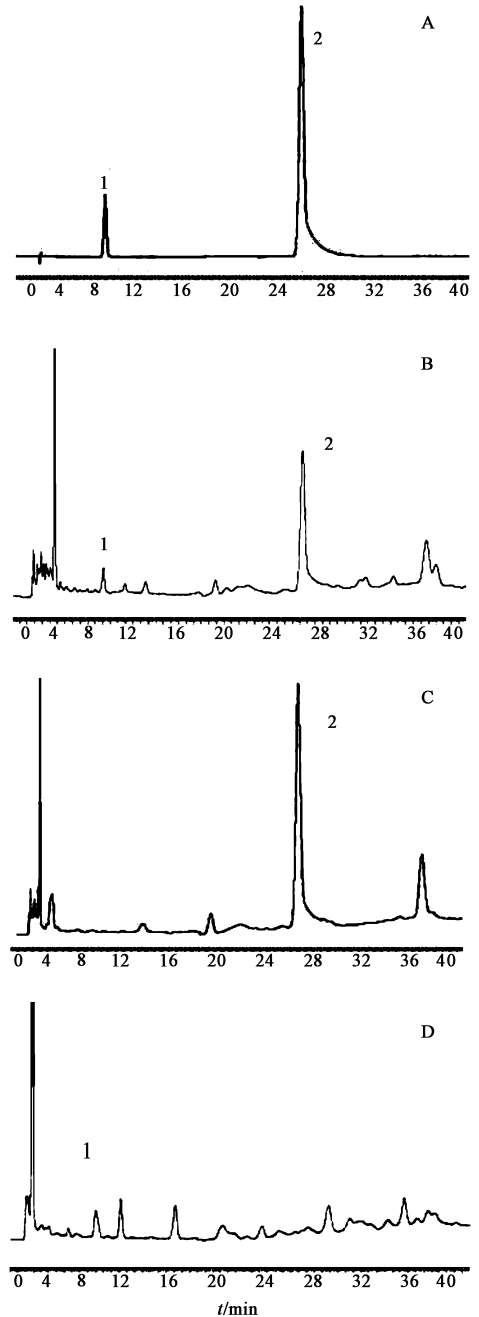
2.1.2 供试品溶液的制备 取装量差异相下的本品内容物,研细,取0.6 g,精密称定,置100 mL具塞锥形瓶中,加65%的乙醇50 mL,密塞,称定质量,超声处理(功率250 W,频率33 kHz)30 min,放冷,再称定质量,用65%乙醇补足减失质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.1.3 阴性对照溶液的制备 按处方中药味的比例及制备工艺分别制备不含红景天、赤芍的阴性样品溶液。

2.2 色谱条件 采用Kromasil ODS-1色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),以甲醇(A)-0.02 mol·L⁻¹磷酸(B)为流动相,梯度洗脱(0~15 min, 19% A; 19~18% A; 50~60 min 28% A),柱温35℃,流速1.0 mL

·min⁻¹,检测波长275 nm(0~25 min),230 nm(26~60 min),进样量10 μL。

在本文色谱条件下,取对照品溶液、供试品溶液及阴性样品溶液进样。结果阴性样品在红景天苷、芍药苷对照品峰出现的位置上无对应峰出现,表明样品中其他成分对红景天苷、芍药苷的测定无干扰。见图1。



A. 混合对照; B. 供试品; C. 阴性样品; 1. 红景天苷; 2. 芍药苷

图1 芪天胶囊 HPLC

2.3 线性关系试验 精密吸取混合对照溶液(红景天苷506 mg·L⁻¹,芍药苷543 mg·L⁻¹)2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 7.0 mL,分别置10 mL量瓶中,加甲醇稀释

至刻度,摇匀,按上述色谱条件进样测定。以峰面积积分值(Y)为纵坐标进行线性回归,得红景天、芍药苷回归方程为:

$Y = 3\ 227.02X - 4\ 553.46 (r = 0.999\ 5)$; $Y = 14\ 847.87X - 24\ 143.34 (r = 0.999\ 3)$ 。结果表明红景天苷在 $101.2 \sim 354.2\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、芍药苷在 $108.6 \sim 380.1\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 线性关系良好。

2.4 精密度试验 精密吸取混合对照溶液 $10\ \mu\text{L}$,按上述色谱条件连续进样 5 次,测得各峰面积,计算红景天苷、芍药苷峰面积的 RSD 分别为 1.56%, 1.89%, 结果表明仪器精密度良好。

2.5 重复性试验 取芪天胶囊样品 6 份,精密称定,按照 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,依法测定,计算红景天苷、芍药苷平均质量分数分别为 0.65, 1.18 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 分别为 0.98%, 1.03%, 表明本方重复性良好。

2.6 稳定性试验 取同一批样品溶液(批号 20110704),至室温密闭放置,分别在 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 进样,测定红景天苷、芍药苷的峰面积 RSD 分别为 1.11%, 1.5%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.7 加样回收率试验 精密吸取同一批已知含量(批号 20110704)的样品 6 份,精密称定,分别准确加入对照品溶液适量,按照 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,在上述色谱条件下进行试验。计算红景天苷、芍药苷的回收率和 RSD,结果见表 1。

表 1 芪天胶囊中两组份加样回收率试验

成分	样品含量 /mg	加入量 /mg	实测值 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
红景天苷	0.590 1	0.502 2	1.092 3	100.00	99.51	0.40
	0.582 1	0.507 7	1.087 8	99.61		
	0.620 5	0.507 1	1.123 6	99.21		
	0.650 0	0.496 1	1.140 7	98.91		
	0.615 4	0.504 9	1.117 8	99.50		
	0.640 3	0.500 1	1.139 5	99.82		
芍药苷	1.143 8	0.998 4	2.102 3	96.00	97.66	1.36
	0.990 0	1.000 1	1.960 1	97.00		
	1.014 9	1.003 3	1.983 3	96.52		
	1.191 4	1.002 0	2.176 6	98.32		
	1.121 7	0.998 5	2.111 3	99.11		
	1.126 3	1.091 3	2.206 5	98.98		

2.8 样品测定 按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液,在上述色谱条件下进行试验。结果见表 2。

表 2 不同批号样品含量测定($n=3$)

批次	红景天苷	芍药苷
20110303	0.58	1.18
20110501	0.61	1.20
20120103	0.64	1.25

3 讨论

考察了超声处理,加热回流方法对样品的提取效果,以超声处理的提取率最高,同时比较了超声处理不同溶剂(甲醇、乙醇、水)、提取时间(15, 30, 45, 60 min)对提取效率的影响,最终确定 65% 的乙醇超声处理 30 min。

分别取红景天苷对照品和芍药苷对照品溶液适量,经紫外-可见全波长扫描,在 200 ~ 700 nm 记录吸收光谱。红景天苷在 275 nm 处有最大吸收,芍药苷在 230 nm 处有最大吸收,故采用 275 nm 作为红景天苷的检测波长,230 nm 作为芍药苷的检测波长。

参考 2010 年版《中国药典》^[1] 考察了红景天苷及芍药苷的含量测定,结果芍药苷的分离度符合药典规定,红景天苷的分离度($R < 1.5$)不符合药典规定,同时参考文献^[4-5],通过调整红景天苷流动相的比例,确定红景天苷流动相为甲醇-磷酸(19:81),实验中试图采用梯度洗脱同时测定 3 味药材合提后两组分的含量,结果表明单独测定和选用梯度测定含量相差不大,且选用梯度洗脱红景天苷和芍药苷的理论塔板数、分离度均符合药典规定,因此确定选用梯度洗脱对三味药材合提后两组分进行含量测定。

参考文献^[6-10] 尝试采用了甲醇-水、甲醇-磷酸二氢钾、乙腈-水、乙腈-磷酸、甲醇-磷酸。甲醇-水采用梯度洗脱,通过调整比例,红景天苷分离度差,且芍药苷拖尾严重;甲醇-磷酸二氢钾采用梯度洗脱,通过调整比例,红景天苷分离度较好,但芍药苷峰型拖尾仍未改善;乙腈-水、乙腈-磷酸系统采用梯度洗脱,通过调整比例,芍药苷分离度不好,且基线漂移严重;甲醇-磷酸系统采用梯度洗脱,通过调整比例,红景天苷和芍药苷分离效果符合规定,色谱峰尖锐,芍药苷有拖尾现象,加入扫尾剂后峰型有所改善,最终确定流动相为甲醇-0.02 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸水溶液,根据样品的实际情况调整了流动相的比例,并采用梯度洗脱。

[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:化学工业出版社,2010:147,144.

硫熏和烘干金银花中绿原酸、 木犀草苷含量对比分析

刘伟*, 茹凡书, 崔永霞, 陈宁

(河南中医学院分析测试中心, 郑州 450008)

[摘要] 目的: 比较不同产地硫熏和烘干金银花中绿原酸、木犀草苷含量变化, 考察硫熏工艺对金银花内在化学成分的影响。方法: 采用 HPLC 测定不同产地、不同炮制方法金银花中绿原酸及木犀草苷含量。结果: 硫熏后金银花中绿原酸含量明显升高, 而木犀草苷含量变化不大。结论: 硫熏对金银花中绿原酸含量影响较大, 但对木犀草苷含量基本无影响, 不同产地两种成分含量相差较大。

[关键词] 高效液相法; 硫熏; 烘干; 金银花; 绿原酸; 木犀草苷; 对比分析

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)01-0091-04

Comparison of Content of Chlorogenic Acid and Luteolin in Sulfur Fumigation and Drying *Lonicera japonica*

LIU Wei*, RU Fan-shu, CUI Yong-xia, CHEN Ning

(Center of Analysis and Measurement, Henan College of Traditional Chinese Medicine,
Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the changes of chlorogenic acid and luteolin content in sulfur fumigation and drying *Lonicera japonica*, in order to study the chemical components of *L. japonica*. **Method:** The content of chlorogenic acid and luteolin from different origin and different processing methods was determined with HPLC. **Result:** Chlorogenic acid was significantly increased, while the content of luteolin changed very little after sulfur smoked. **Conclusion:** The content of chlorogenic acid has increased significantly after sulfur smoked, but the

[收稿日期] 20120627(006)

[基金项目] 河南省教育厅自然科学研究计划项目(2010A360016)

[通讯作者] * 刘伟, 本科, 教授, 从事中药质量标准和仪器分析方法的研究, Tel: 0371-65575838, E-mail: hnliuwei2088@sina.com

- [2] 张永杰, 李忠业, 曹延柏. 藏药红景天复方治疗冠心病 42 例疗效观察[J]. 实用中西医结合杂志, 1993, 6(1): 8.
- [3] 李青, 宋志前, 王超, 等. 青海产红景天中红景天苷及酪醇含量分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(15): 110.
- [4] 文萍, 余良忠, 李晶. HPLC 测定景天祛斑胶囊中红景天苷的含量[J]. 中成药, 2008, 30(2): 299.
- [5] 何建雄, 赖小平, 魏刚, 等. HPLC 测定银翘柴桂汤中绿原酸、芍药苷、黄芩苷[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(6): 48.
- [6] 王甫成, 时维静, 汪翠妮. 不同加工方法对亳白芍中芍药苷及水溶性浸出物含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(18): 75.
- [7] 李雪晴, 文爱东. 高效液相色谱法测定舒肤胶囊中芍药苷的含量[J]. 西安交通大学学报, 2011, 32(2): 256.
- [8] 吕立华, 曾泽民, 李雪艳, 等. 活血止痛合剂中芍药苷的含量[J]. 湖南中医药导报, 2004, 10(6): 86.
- [9] 袁勇, 刘恒戈, 陈卫军, 等. RP-HPLC 法同时测定复方黄芪片中芍药苷及红景天苷的含量[J]. 农垦医学, 2011, 33(4): 304.
- [10] 张瑞堂, 石晓峰, 张红梅. 复方红景天口含片提取工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(13): 42.

[责任编辑 顾雪竹]