

HPLC 测定前列安通胶囊中芍药苷的含量

丁仕强*

(大连大学环境与化学工程学院, 辽宁 大连 116622)

[摘要] 目的:采用高效液相色谱建立前列安通胶囊中芍药苷含量的检测方法。方法:采用 Waters Nova-Pak C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 4 μm), 以乙腈-水 (15:85) 为流动相, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 230 nm, 芍药苷的保留时间为 3.757 min。结果:芍药苷质量在 0.20 ~ 4.0 μg 呈良好线性关系 ($r = 0.9976$)。低、中、高 3 个浓度的平均加样回收率分别为 97.85% ~ 100.38% (RSD 0.37% ~ 0.81%)。结论:该方法简便快速, 结果准确可靠, 可用于前列安通胶囊中芍药苷的 HPLC 含量测定。

[关键词] 高效液相色谱; 前列安通胶囊; 芍药苷
[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)23-0061-03

Determination of Paeoniflorin in Qianlie Antong Capsule by HPLC

DING Shi-qiang*

(College of Environment and Chemical Engineering, Dalian University, Dalian 116622, China)

[Abstract] Objective: To determine the content of the paeoniflorin in Qianlie Antong capsule by HPLC. Method: The separation was performed on Waters Nova-Pak C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 4 μm) column eluted

[收稿日期] 20120322(010)
[基金项目] 辽宁省化工环保工程技术研究中心\大连大学创新教育基金项目(2011144)
[通讯作者] * 丁仕强, 硕士, 实验师, 从事分析教学, Tel:0411-87402436, E-mail:dsq920@163.com

表 2 样品含量测定结果

批号	样品量 /mg	样品百分 含量/%	各批平均 含量/%	平均含量 /%
20120503	10.04	10.04	10.35	
	10.06	10.03		
20120504	10.06	10.03	10.35	10.37
	10.02	10.04		
20120505	9.99	10.40	10.40	
	10.02	10.40		

考察了温度对高车前苷色谱峰的影响,发现不同温度对高车前苷的分离度和峰型好坏有一定的影响,温度为 40,35 ℃,甲醇比例为 48% 时,峰型不是很好,而当温度为 30 ℃ 时,甲醇比例为 48% 时,峰型较好,但是保留时间比较长,因此增加甲醇比例,调整保留时间,最终定为甲醇比例为 50%,温度为 30 ℃,峰型和分离度均较好。

在荔枝草中高车前苷是其主要黄酮类成分,故对制剂中高车前苷的含量测定很有实际意义。作者采用 HPLC 测定荔枝草提取物中高车前苷的含量,

大大提高了试验的灵敏性和选择性,测定结果准确性可靠。

[参考文献]

[1] 傅国强,王硕,王跃生. 荔枝草及其混淆品的 HPLC 指纹图谱鉴定[J]. 江西中医学院学报, 2008, 20(6): 72.

[2] 裴云萍,吴正红,方芸,等. 荔枝草及复方荔枝草提取液体外抑菌实验[J]. 江苏药学及临床研究, 2001, 9(3): 6.

[3] 郭仁永,李玲,郝洪. 荔枝草止咳平喘作用的研究[J]. 国医论坛, 2000, 15(4): 41.

[4] 刘旭杰,李玲,郝海鸥. 荔枝草的祛痰及抗组胺作用[J]. 第四军医大学学报, 2003, 24(19): 1776.

[5] 卢汝梅,杨长水,韦建华. 荔枝草化学成分研究[J]. 中草药, 2011, 42(5):859.

[6] 张旭,王锦玉,仝燕,等. 大孔树脂技术在中药提取纯化中的应用及展望[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 16(6):286.

[责任编辑 顾雪竹]

with the mobile phase consisting of acetonitrile-water (15:85) at the flow rate of $1\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. The detection wavelength was at 230 nm and the retention time of paeoniflorin was 3.757 min. **Result:** Paeoniflorin showed good linearity ($r=0.9976$) in the range of 0.20-4.0 μg . The mean recoveries of low, middle and high concentration of the components were among 97.85%-100.38% (RSD 0.37%-0.81%). **Conclusion:** The method is rapid, simple, accurate and reliable, and it can be used for determining paeoniflorin in Qianlie Antong capsule.

[**Key words**] HPLC; Qianlie Antong capsule; paeoniflorin

前列安通胶囊是由黄柏、赤芍、丹参、桃仁、泽兰、乌药、王不留行、白芷 8 味中药组方而成,具有清热利湿、活血化瘀功能。用于治疗湿热瘀阻证,症见尿频、尿急、排尿不畅,小腹胀痛等,其组方中赤芍所含主要有效成分为芍药苷(paeoniflorin)。芍药苷属于萜烷单萜苦味苷,具有扩张血管、镇痛镇静、抗炎抗溃疡、解热解痉、利尿等作用^[1]。关于芍药苷含量测定方法已见报道的有薄层扫描法、毛细管电泳法、薄层-紫外分光光度法、高效液相色谱法等^[2-7],其中前列安片中芍药苷含量报道较多^[7-8],王媛等对前列安通胶囊中盐酸小檗碱的含量进行了相关测定^[9],王春影等采用 HPLC 测定了前列安通胶囊中原儿茶醛含量^[10],但前列安通胶囊中芍药苷的测定方法未见报道,本法采用高效液相色谱建立了前列安通胶囊中芍药苷的测定方法,具有操作简便、快速、准确、灵敏度高、重复性及分离效果好的特点,适用于药品检测和质量控制。

1 仪器与试剂

美国 Waters 高效液相色谱仪,配 600 泵、2487 双波长紫外检测器、7725i 手动进样器。水为超纯水,甲醇和乙腈为色谱纯,前列安通胶囊(薄膜衣每粒重 0.35 g,西安仁仁药业有限公司),芍药苷对照品(上海晶纯试剂有限公司提供,批号 0736-200117)。

2 方法

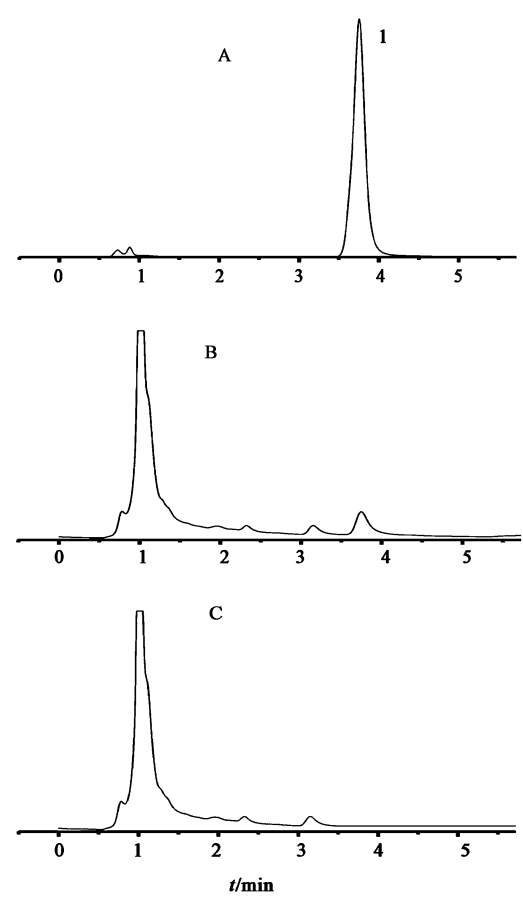
2.1 对照品储备液 精密称取芍药苷对照品 4 mg 于 2 mL 离心管中,用流动相定容,为 $2\,000\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的储备液。

2.2 样品溶液 取前列安通胶囊 20 粒,精密称定,计算平均粒重,取研磨后的粉末 0.100 0 g 于 10 mL 量瓶中,加流动相 8 mL,超声波(100 W,40 kHz)提取 30 min,用流动相定容,混匀,取 5 mL 离心 10 min ($3\,000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$),上清液用 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤。

2.3 阴性对照溶液配制 按制剂制备方法,配制不含赤芍的阴性对照样品,按 2.2 项下从“取粉末 0.100 0 g 于 10 mL 量瓶”开始的步骤制备阴性样品溶液。

2.4 色谱条件 Waters Nova-Pak C_{18} 色谱柱(4.6 mm $\times$ 150 mm,4 μm),流动相乙腈-水(15:85),流速 $1.0\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,柱温为室温,UV 检测器,检测波长 230 nm,进样量为 20 μL 。

2.5 方法专属性 取对照品储备液,加流动相配制质量浓度为 $20\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品溶液,与样品溶液及阴性样品溶液在上述色谱条件下分别进样,芍药苷的保留时间为 3.757 min,分离良好,阴性样品溶液不干扰测定,见图 1。



A. 对照品;B. 样品;C. 阴性;1. 芍药苷

图 1 前列安通胶囊的 HPLC

2.6 线性关系考察 取对照品储备液,加流动相配制质量浓度分别为 10,20,50,80,100,200 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品系列溶液,在上述色谱条件下进样分析,以

进样量(μg)为横坐标 X ,以峰面积为纵坐标 Y ,进行线性回归,线性回归方程为 $Y = 36\ 115X + 285\ 716$ ($r = 0.997\ 6$),表明芍药苷质量在 $0.20 \sim 4.0\ \mu\text{g}$ 呈良好线性关系。

2.7 精密度试验 精密吸取样品溶液 $20\ \mu\text{L}$,重复进样 6 次,测定芍药苷峰面积,计算得 RSD 0.44% ,表明精密度良好。

2.8 稳定性试验 取对照溶液,按上述色谱条件每隔 2 h 测定一次,记录峰面积,结果表明芍药苷在 8 h 内稳定, RSD 0.81% 。

2.9 重复性试验 取样品(批号 101001)7 份,按 2.2 项下方法制备样品溶液,进样测定,外标法计算得芍药苷平均含量为 $3.59\ \text{mg/粒}$, RSD 1.23% 。

2.10 回收率试验 精密量取取同一批(批号 101001)已知含量的前列安通胶囊粉末 $0.050\ \text{g}$,共 6 份,3 份为一组,每组分别加 $2\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 芍药苷对照品溶液 $0.20, 0.25, 0.30\ \text{mL}$,按前述样品溶液制备方法 & 色谱条件进行测定峰面积,计算回收率,见表 1。

表 1 加样回收率试验

加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
0.4	0.893 6	98.39	97.85	0.52
0.4	0.889 5	97.38		
0.4	0.891 1	97.78		
0.5	0.991 4	98.27	97.9	0.37
0.5	0.987 7	97.54		
0.5	0.989 5	97.9		
0.6	1.107 6	101.27	100.38	0.81
0.6	1.098 1	99.68		
0.6	1.101 1	100.19		

注:样品中质量均为 $0.5\ \text{mg}$ 。

2.11 样品含量测定 取样品 3 批,按 2.2 项下方法制备样品溶液,进样测定,外标法定量,结果批号为 101001, 101005,101008 的 3 批样品含量分别为

$3.59, 3.61, 3.60\ \text{mg/粒}$ 。

3 讨论

采用超声波提取试验结果表明,超声 20 min 即可基本提取完全,故采用超声 30 min 进行提取,以保证提取完全。

曾试用了 0.1% 磷酸液-乙腈 ($10:90$)、甲醇-水 ($10:90$)、甲醇-水 ($30:70$)、甲醇-水 ($40:60$)、 0.1% 磷酸液-乙腈 ($90:10$) 等为流动相,结果以乙腈-水 ($15:85$) 为流动相色谱分离最好。

[参考文献]

[1] 王宪楷.天然药物化学[M].北京:人民卫生出版社,1988:400.

[2] 陈发奎.常用中草药有效成分含量测定[M].北京:人民卫生出版社,1997:188.

[3] 黄欣,苏乐群,韩玉东,等.反相高效液相色谱法测定少腹逐瘀微粉颗粒中芍药苷的含量[J].中国药房,2005,16(6):457.

[4] 林生文,李玮玲,朱炳辉.仲景胃灵片中芍药苷的含量测定[J].分析测试学报,2004,23(1):114.

[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] 冯兵,陈婷,赵瑞芝,等. HPLC 测定复方昆丹胶囊中芍药内酯苷、芍药苷、二苯乙炔苷、五没食子酰葡萄糖[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(7):112.

[7] 周小平,周围,赵生国,等. 超高效液相色谱测定前列安通片中的芍药苷含量[J]. 药物分析杂志,2008,28(2):294.

[8] 周小平,蒋玉梅,周围,等. 超高效液相色谱测定前列安通片中的芍药苷含量[J]. 中国卫生检验杂志,2008,18(1):8.

[9] 王媛,崔彦. HPLC 法测定前列安通胶囊中盐酸小檗碱的含量[J]. 淮海医药,2012,30(2):163.

[10] 王春影;于伟华. HPLC 法测定前列安通胶囊中原儿茶醛含量[J]. 黑龙江医药,2009,22(5):614.

[责任编辑 顾雪竹]