

反相高效液相色谱法测定血府逐瘀软胶囊中芍药苷的含量

桂双英^{1*}, 周亚球¹, 徐 衡², 朱 友²

(1. 安徽中医学院药学院, 安徽 合肥 230031; 2. 安徽省华康医药科技开发有限公司, 安徽 合肥 230061)

[摘要] 目的: 建立血府逐瘀软胶囊中芍药苷的含量测定方法。方法: 反相高效液相色谱(RP-HPLC)法, 采用 C₁₈柱, 流动相: 乙腈-水-冰醋酸(16: 84: 0.8); 检测波长: 230nm。结果: 在该分离条件下, 芍药苷浓度在 0.5 μ g~ 4.0 μ g 范围内有良好的线性关系, $r = 0.9997$ ($n = 5$); 平均回收率为 98.41%, RSD 为 1.25% ($n = 9$)。结论: 建立的方法稳定可靠, 可作为本制剂中芍药苷的含量测定。

[关键词] 反相高效液相色谱; 血府逐瘀软胶囊; 芍药苷; 含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)11-0012-03

Determination of Paeoniflorin in Xuefu Zhuyu Soft Capsule by RP-HPLC

GUI Shuang-ying^{1*}, ZHOU Ya-qiu¹, XU Heng², ZHU You²

[收稿日期] 2006-03-02

[通讯作者] * 桂双英, Tel: (0551) 5169225; E-mail: guishy0520@yahoo.com.cn

(1. Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230031, China;
2. Anhui Huakang Pharm Tech. & Dev. Co. Ltd., Hefei 230061, China)

[**Abstract**] **Objective:** To develop an HPLC method for the determination of paeoniflorin in Xuefu Zhuyu Soft Capsule. **Methods:** A C_{18} column was used with the mobile phase of acetonitrile-water-acetic acid (16: 84: 0.8), at the detection wavelength of 230nm. **Results:** Paeoniflorin showed a good linear relationship at a range of 0.5 μ g~ 4.0 μ g, $r = 0.9997$ ($n = 5$), and the recovery was 98.41%, RSD was 1.25% ($n = 9$). **Conclusion:** The method is stable and reliable. It can be used for the quality control of Xuefu Zhuyu Soft Capsule.

[**Key words**] RP-HPLC; Xuefu Zhuyu Soft Capsule; Paeoniflorin; Determination

血府逐瘀软胶囊系由桃仁、红花、当归、川芎、地黄、赤芍、牛膝、柴胡、枳壳、桔梗、甘草组成,具有活血化瘀、行气止痛之功效,临床用于瘀血内阻,头痛或胸痛,内热瞋闷,失眠多梦,心悸怔忡,急躁善怒等症。经多年临床验证,该方有良好的临床疗效。处方中药味多,成分复杂。赤芍是本方主药,其主要成分为芍药苷,具有镇静、解痉、抗炎、抗凝血、促纤溶、抑制血小板聚集、抗血栓、扩张冠脉血管以及对抗心脑血管缺血等多方面的作用^[1],是本制剂的有效成分之一。有关芍药苷的含量测定方法报道较多,但针对本方药味多、成分复杂的特性,本文通过中性氧化铝柱纯化处理样品,用高效液相色谱法测定芍药苷含量,为该制剂提供有效的质量控制方法。

1 仪器和材料

1.1 仪器 岛津 LC-10AT 高效液相色谱仪, SPD-10AV 紫外检测器;浙大 N2000 色谱工作站。

1.2 试剂 乙腈为色谱纯,重蒸水(自制),其他试剂为分析纯。

1.3 对照品 芍药苷为中国药品生物制品检定所提供,(批号:110736-200320,供含量测定用)。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备 取本品内容物约 0.28g,精密称定,置索氏提取器中,加石油醚 80mL,加热回流 1h,弃去石油醚液,药渣挥去石油醚,置锥形瓶中,精密加入甲醇 40mL,称定重量,超声处理 30min,放冷,再称定重量,用甲醇补充减失的重量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 20mL,置已处理好的中性氧化铝(200~300 目,5g,柱内径 1.5cm,干法装柱)柱上,用 80% 甲醇 100mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加流动相适量使溶解,转移至 5mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,用微孔滤膜滤过(0.45 μ m),即得。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取经五氧化二磷

干燥 36h 的芍药苷 12.5mg,置 25mL 量瓶中,用流动相溶解并定容,制得每 1mL 含 0.5mg 的溶液,即得。

2.3 阴性供试品溶液的制备 按本制剂的制备方法制得缺赤芍的阴性样品制剂,取阴性样品制剂内容物约 0.28g,精密称定,按供试品溶液的制备方法制得阴性供试品溶液。

2.4 色谱条件 色谱柱:十八烷基硅烷键合硅胶柱 Shim-pack CLC-ODS 250mm \times 4.6mm;流动相:乙腈-水-冰醋酸(16:84:0.8);流速:1.0mL/min;检测波长:230nm;柱温:室温;进样量:20 μ L。理论塔板数按芍药苷计算,应不低于 2000,分离度大于 1.5。

2.5 专属性试验 精密吸取血府逐瘀软胶囊供试品溶液、阴性供试品溶液以及芍药苷对照品溶液各 20 μ L,按上述色谱条件进行测定,结果阴性供试品溶液在芍药苷保留时间内无干扰峰出现,证明本品中其它药材对赤芍的测定无干扰(图 1)。

2.6 线性关系的考察 精密量取 0.5mg/mL 的芍药苷对照品溶液 0.5mL、1.0mL、2.0mL、3.0mL、4.0mL 分别至 10mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,得一系列对照品溶液,各取 20 μ L,按上述色谱条件分别注入液相色谱仪,测定峰面积。以峰面积(A)对浓度(C)进行线性回归,得回归方程: $A = 64391C - 22750$, $r = 0.9997$ 。结果表明芍药苷浓度范围在 0.5 μ g~4.0 μ g 之间峰面积与浓度线性关系良好。

2.7 精密度试验 精密取芍药苷对照品溶液(0.1mg/mL)20 μ L,注入液相色谱仪,连续进样 6 次,测定峰面积,计算 RSD 为 0.41%。

2.8 样品溶液的稳定性 取血府逐瘀软胶囊内容物适量,依法制备供试品溶液,精密量取供试品溶液 20 μ L,按上述色谱条件注入液相色谱仪,每隔 4h 测定 1 次,供测定 5 次,芍药苷峰面积 RSD 为 1.32%,结果表明在 16h 以内样品溶液基本稳定。

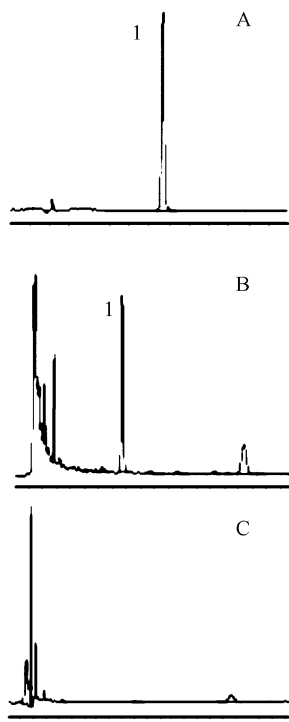


图 1 血府逐瘀软胶囊 HPLC 色谱图

A: 芍药苷对照品; B: 血府逐瘀软胶囊; C: 阴性样品; 1: 芍药苷色谱峰

2.9 重复性试验 取批号 20040320 样品, 按供试品溶液的制备项下的方法制备 6 份, 按上述色谱条件测定(此试验由 2 人分别测定)峰面积, 计算芍药苷含量, 其 RSD 为 1.74%。

2.10 加样回收率试验 精密移取芍药苷对照品溶液(0.5mg/mL) 适量, 加入到批号 20040320 的样品中, 按供试品溶液的制备方法制备样品溶液中, 分别精密量取供试品溶液及芍药苷对照品溶液(0.1mg/mL) 20 μ L, 按上述色谱条件注入液相色谱仪, 测定峰面积, 计算芍药苷回收率。结果见表 1。

表 1 芍药苷加样回收率试验结果

序号	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.472	0.4	0.859	96.75		
2	0.468	0.4	0.866	99.50		
3	0.470	0.4	0.860	97.50		
4	0.491	0.5	0.994	100.60		
5	0.479	0.5	0.966	97.40	98.41	1.25
6	0.467	0.5	0.960	98.60		
7	0.461	0.6	1.057	99.33		
8	0.471	0.6	1.061	98.33		
9	0.482	0.6	1.068	97.67		

2.11 样品测定 3 批样品按上述方法制备样品溶液, 分别精密量取样品溶液和芍药苷对照品溶液(0.1mg/mL) 各 20 μ L, 注入液相色谱仪, 按外标法以峰面积计算含量, 结果见表 2。

表 2 血府逐瘀软胶囊中芍药苷的含量测定结果

批号	芍药苷/(mg/粒)	RSD/%
040915	2.93	1.97
040916	2.59	1.41
040917	2.65	1.32

3 讨论

流动相选择时, 我们参照文献进行了大量的摸索试验^[2,3], 发现甲醇-水体系色谱柱压较高, 且芍药苷理论塔板数低, 保留时间长, 因此选用了乙腈-水体系。以乙腈-水-冰醋酸(16: 84: 1) 为流动相, 流速 1.0mL/min 时, 芍药苷峰的保留时间约为 19min, 保留时间太长, 柱效低; 而以乙腈-水-冰醋酸(16: 84: 0.8) 为流动相时, 芍药苷峰的保留时间约为 16min, 柱效 5000 以上, 峰形较好, 分离度大于 1.5, 因此我们选其为流动相。

在供试品溶液的制备试验中, 因软胶囊基质植物油影响含量测定, 故采用索氏提取器脱脂。我们对中性氧化铝的规格、用量及洗脱柱的规格均作了考察, 200~ 300 目的中性氧化铝对杂质的吸附能力明显好于 100~ 200 目的中性氧化铝, 且对含量测定成分芍药苷几乎没有影响, 中性氧化铝的用量 5g 即能符合含量测定的要求; 洗脱剂的选择试验表明, 80% 甲醇去除杂质多且将测定成分芍药苷洗脱完全。

[参考文献]

- [1] 王朝虹, 闵知大. 芍药化学成分及药理研究[J]. 时珍国医国药, 1999, 10(7): 544-546.
- [2] 刘兴昌, 杨松松, 王升辉. 高效液相色谱法测定蒲杞宫泰颗粒中芍药苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2002, 8(3): 9-10.
- [3] 吴毅, 张文惠, 王永刚. HPLC 法测定安坤颗粒中芍药苷含量[J]. 江西中医学院学报, 2002, 14(1): 42-43.