

· 论著 ·

乐脉胶囊中芍药苷含量的 HPLC 测定方法

董月辉¹, 赵金², 王承平³

(1. 山东省济南卫生学校, 山东济南 250023; 2. 山东省分析测试中心, 山东济南 250014;

3. 月旭材料科技(上海)有限公司, 上海 201203)

【摘要】 目的 建立并验证高效液相色谱法检测乐脉胶囊中芍药苷的含量。方法 Ultimate 5 AQ-C18(4.6 × 150 mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相, 乙腈-0.2% 磷酸溶液 10: 90; 检测波长: 230 nm; 流速: 1.0 ml/min; 温度: 25℃。结果 芍药苷 $Y = 1.374X - 912.43$, 相关系数是 0.9998, 线性范围为 6.72 μg/ml ~ 168 μg/ml, 平均回收率为 97.8%, RSD 为 0.63%。结论 本方法简便、灵敏、准确、重现性好、专属性强, 可用于药厂和药检所对乐脉胶囊中芍药苷含量的质量控制和产品监测。

【关键词】 乐脉胶囊; 芍药苷; 含量测定; HPLC

【中图分类号】 R286 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1674-2257(2011)02-0153-03

Content determination of paeoniflorin in Lemai capsules by HPLC

DONG Yue-hui¹, ZHANG Li-li², WANG Cheng-ping³

(1. Jinan Health School of Shandong Province, Jinan, Shandong 250023, China; 2. Shandong Analysis and Test Center, Jinan 250014, Shandong China; 3. Welch Materials Inc, Shanghai 201203, China)

【Abstract】 Objective To develop a HPLC method for the determination of paeoniflorin in Lemai capsules. **Methods** The analysis was carried on a Ultimate 5 AQ-C18 (4.6 × 150mm, 5μm) column. The mobile phase was composed of acetonitrile and 0.2% phosphoric acid(10: 90) and the flow rate was 1.0ml/min. The detection wavelength was set at 230nm and column temperature was 25℃. **Results** The linear range of paeoniflorin was 6.72-168μg/mL ($r = 0.9998$). The average recovery ($n = 7$) was 97.8%, and RSD was 0.63%. **Conclusion** This method with strong specificity was simple, sensitive, accurate, reproducible, and can be used in pharmaceutical factory and drug inspection agency for the determination of paeoniflorin in Lemai capsule.

【Key words】 Lemai capsule; paeoniflorin; content determination; HPLC

乐脉胶囊是中药类硬胶囊, 理血/降脂药, 是广泛应用的 OTC 药品, 是由丹参、川芎、赤芍、红花等 7 味中药制成的复方制剂, 具有行气活血、化瘀通脉之功效, 用于气滞血瘀所致的头痛、眩晕、胸痛, 心悸、冠心病、心绞痛、多发性脑梗死的治疗, 赤芍为该制剂的主药之一, 其主要有效成分为芍药苷。为了提高该制剂的质量标准, 本研究建立了 HPLC^[1] 测定该制剂中芍药苷含量的方法。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(上海伍丰仪器, LC100 二元高压系统, 紫外检测器), Ultimate 5 AQ-C18(4.6 × 150 mm, 5 μm) 色谱柱(月旭公司); 1/1 万电子天平(上海舜宇恒平); 超声波清洗机(昆山超声波仪器

厂)。

芍药苷对照品: 中检所提供; 乐脉胶囊: 市场购买; 乙腈(色谱纯): HoneyWell; 磷酸二氢钠(分析纯): 国药集团; 三乙胺(分析纯): 国药集团; 氢氧化钠(分析纯): 国药集团; 水: 重蒸馏水。

1.2 色谱条件

Ultimate 5 AQ-C18(4.6 × 150 mm 5 μm) 色谱柱; 检测波长 230 nm; 流动相 乙腈-0.2% 磷酸溶液 10: 90; 温度 25℃; 流速 1.0 mL/min; 进样量 10 μL, 见图 1。

1.3 样品溶液制备

芍药苷标准品溶液储备液: 精密称取对照品 8.4 mg 至 25 mL 容量瓶中, 用稀乙醇定容至刻度, 使其浓度含芍药苷为 0.336 mg/mL, 超声使其溶解摇匀即得。

芍药苷标准品溶液: 精密量取对照储备液 1 mL 至 25 mL 容量瓶中, 用流动相定容至刻度, 使其浓度为 13.44 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 摇匀即得。

乐脉胶囊样品溶液: 取 20 粒乐脉胶囊, 取出内容物混匀, 精密称取 0.5 g 乐脉胶囊内容物, 置 100 mL 的具塞锥形瓶中, 精密量取稀乙醇 50 mL, 称定重量, 浸泡两小时, 超声处理 30 min; 放冷, 称重, 用稀乙醇补足损失的重量, 摇匀, 过滤, 精密量取 5 mL 置于 25 mL 的量瓶中加入稀乙醇至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 滤膜过滤。

阴性样品溶液: 取缺赤芍阴性样品粉末, 精密称取 0.5 g, 按样品溶液项方法处理。

2 结果

2.1 色谱图

取芍药苷标准品溶液、乐脉胶囊样品溶液和阴性样品溶液各 10 μL , 按照 1.2 项条件测试, 谱图如图 1~3。

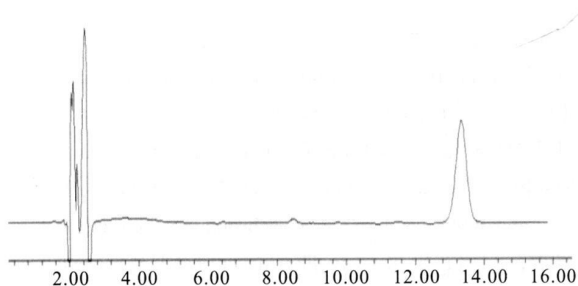


图 1 芍药苷标准品溶液

Fig. 1 Standard solution of paeoniflorin

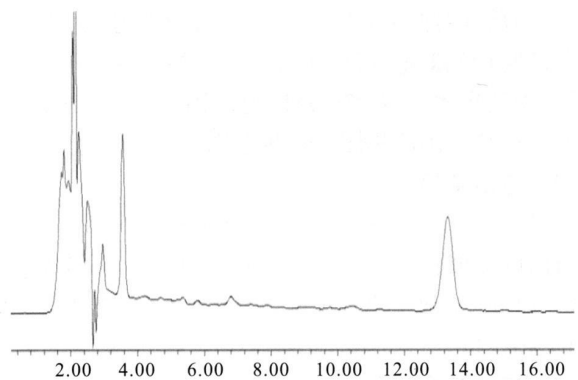


图 2 乐脉胶囊样品溶液

Fig. 2 Sample solution of Lemai capsule

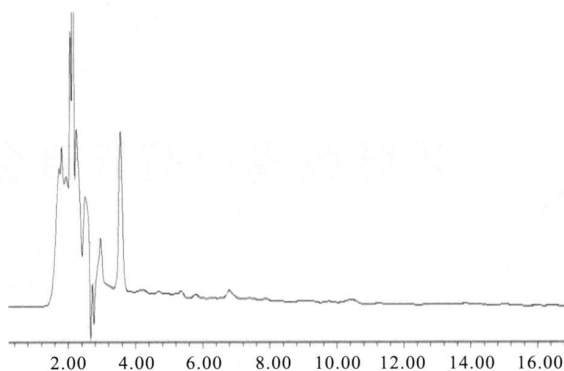


图 3 缺赤芍阴性样品溶液

Fig. 3 Negative sample solution (with no paeony)

2.2 精密度实验

取芍药苷对照品溶液 10 μL , 按照 1.2 项色谱条件, 连续进样 6 针, 计算其峰面积的相对标准偏差 RSD 为 0.33%, 说明精密度良好。

2.3 重复性试验

取混匀的乐脉胶囊内容物粉末, 按照 1.3 项方法, 同时制备 6 份样品溶液, 按照 1.2 项色谱条件, 各取 10 μL 进样测定, 同时对对照品溶液进行检测, 按照外标法定量, 6 份样品检测结果计算相对标准偏差 RSD 为 0.83%, 说明重复性良好。

2.4 样品溶液稳定性试验

制备乐脉胶囊样品溶液分别于 0、1、2、3、5、6、8、10 h 检测, 其峰面积没有明显的变化, 其相对标准偏差 RSD 为 0.39%, 说明该样品溶液在 10 h 内稳定。

2.5 线性试验

取芍药苷对照储备液适量, 用稀乙醇作为溶剂, 配置成浓度分别为 6.72 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、10.08 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、13.44 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、20.16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、26.88 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、67.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、168 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 按 1.3 项色谱条件, 依次分析各标准溶液, 以峰面积 (A) 对进样量 (μg) 做图, 绘制相应值与浓度的关系曲线。芍药苷的线性回归方程及相关系数分别为: $Y = 1374X - 912.43$, $r = 0.9998$, 线性范围为 6.72 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ~ 168 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.6 回收率试验

取市售的乐脉胶囊 20 粒, 取出内容物, 混匀, 共称取 6 份, 每份为 0.25 g, 加入芍药苷储备液 3 mL、3 mL、3.7 mL、3.7 mL、4.5 mL、4.5 mL, 按照 1.2 项样品溶液项方法处理, 照 1.3 项色谱条件检测, 其平均回收率为 98.09%, RSD 0.71%。

2.7 样品测定

取市场上随机购买 5 盒乐脉胶囊,按照 1.2 项

样品溶液方法处理,按照 1.3 项色谱条件进行含量测定(见表 1)。

表 1 乐脉胶囊中药药苷含量测定结果

Tab. 1 Determination of paeoniflorin in lemai capsule

厂家批次	厂家 Aa 批次	厂家 Ab 批次	厂家 Ac 批次	厂家 Ba 批次	厂家 Bb 批次
结果(mg/粒)	2.49	2.53	2.59	2.78	2.83

3 讨论

3.1 检测波长的选择

取芍药苷对照品溶液进行紫外扫描,在紫外波长 230 nm 有最大吸收,参考 2010 版药典乐脉颗粒^[2]项下含量测定和相关文献,选择 230 nm 为检测波长。

3.2 柱温的选择

温度也是影响峰分离度的一个因素,在 20℃、25℃、30℃、35℃、40℃对样品的杂质分离进行考察,发现柱温对分离度没有太大的影响,为了使保留时间稳定,不影响柱子的使用寿命,综合考虑选择 25℃。

3.3 色谱条件的选择

参考 2010 版药典乐脉颗粒项下含量测定和相关文献^[3-4],考察了甲醇-异丙醇-醋酸-水体系,发现压力较高,而且不同时间配置的流动相检测样品时保留时间差异较大,可能是异丙醇洗脱能力强,微小

的变化也会引起流动相洗脱能力的较大变化,乙腈-水-冰醋酸体系,主峰峰形拖尾,且与杂质分离不好,经过选择,最后确定了乙腈-0.2%磷酸溶液 10:90 体系,主峰峰形好,并且样品与杂质能很好的分离。

对该方法进行考察验证时,各项试验均满足药品含量测定检测方法的验证要求,故该方法简单可行,专属性强。

参考文献

- [1] 黄逸维,傅超美,胡慧玲,等.清利通胶囊质量标准研究[J].成都医学院学报,2010,5(2):141-144.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[M].北京:化学工业出版社,2010:660.
- [3] 周丽,高家荣,夏伦祝.HPLC 测定乐脉软胶囊中芍药苷的含量[J].安徽中医学院学报,2008,27(1):52-53.
- [4] 杜志谦,王广强,薛素娟.芍药苷检测在中药质控中的应用[J].时珍国医国药,2002,13(9):57-59.

(2011-04-08 收稿,2011-05-18 修回)

对作者署名的要求

作者姓名署于文题之下,随后是作者单位。投稿时即确定作者署名顺序,原则上不作更改。多作者、多单位须在右上角注明*或序号^{1,2,3……}等字样,再按编码的顺序列出作者工作单位、所在城市及邮政编码。英文摘要中的作者署名要求紧随英文文题之后列出全部作者姓名的汉语拼音,多作者、多单位同样须在右上角注明*或序号^{1,2,3……}等字样,再按编码的顺序列出全部作者的英文工作单位、所在城市及邮政编码,以及通讯作者及 E-mail 地址。作者的姓氏全大写,名字的首字母大写,双名中间加连字符,姓与名均不缩写。在当页左下角以作者简介作为标志第一作者的简介,包括姓名、出生年、性别、民族、籍贯、学历、职称、主研方向、电话及常用的 E-mail 地址;以通讯作者作为标志列出通讯作者姓名、电话及 E-mail 地址。