

RP-HPLC 法测定通天口服液中芍药苷的含量

姚树森 杨洁¹

(解放军疾病预防控制中心办公室,北京 100850;解放军总医院药品保障中心¹,北京,100853)

摘要 建立了通天口服液中芍药苷的含量测定方法。即采用高效液相色谱法测定通天口服液中芍药苷含量。色谱柱:Kromasil C18 柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相:乙腈-0.1%磷酸梯度洗脱;柱温30℃;检测波长230 nm;进样量:10 μL。芍药苷在0.339 μg/mL—3.782 μg/mL 范围内与峰面积呈良好线性关系, $r=0.999\ 9$;芍药苷平均回收率为100.03%, $RSD=1.79\%$ ($n=6$)。该定量方法简便可行、重复性好,可用于通天口服液的质量控制。

关键词 高效液相色谱法 芍药苷 中成药 含量测定

中图分类号 TQ460.72; **文献标志码** A

通天口服液为头痛类非处方药,功能主治为活血化瘀、祛风止痛,用于瘀血阻滞、风邪上扰所致的偏头痛发作期。主要成份为川芎、赤芍、天麻、羌活、白芷、细辛、菊花、薄荷、防风、茶叶、甘草。其中,赤芍具有清热凉血,散瘀止痛的功效,选择芍药苷作为通天口服液含量测定的指标,采用 HPLC 法测定制剂中芍药苷的含量。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

美国安捷伦公司 Agilent 1100 高效液相色谱仪,实验室专用超纯水机(重庆利迪现代水技术设备有限公司);美国 HP8453 紫外-可见分光光度仪,CP 324S 型分析天平(德国 Sartorius),TRANSSOIC DIGITALS 超声机。

1.2 试剂

芍药苷(批号:110736—200627)购自中国药品生物制品检定所。通天口服液(批号:09040026,09030003,09030024),乙腈为色谱纯(Merck 公司)其他试剂均为分析纯。

2 溶液的制备

2.1 对照品溶液

精密称取芍药苷对照品 7.2 mg,置 50 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得浓度为 143.6 μg/mL 的对照品溶液。

2.2 供试品溶液

精密吸取通天口服液 3 mL,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇 50 mL,密塞,称定重量,控温 25℃ 超声处理(功率 90W,频率 50/60 kHz)45 min,放冷,再称定其重量,用 50% 甲醇补足减失的重量,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,将所得 10 份溶液统一配制成浓度约 30 μg/mL 的溶液,即得。

3 色谱条件

色谱柱:Kromasil C18 柱(5 μm,250 mm×4.6 mm);流动相:KH₂PO₄(0.02 mol/L,pH=3.0):乙腈=83:17;检测波长:230 nm;流速:112 mL/min;柱温:30℃;进样量 10 μL。

溶剂甲醇、143.6 μg/mL 对照品溶液、供试品溶液的色谱图见图 A、B、C。从图 1 可见辅料和试剂对主药测定无干扰,按芍药苷峰计算理论塔板数不高于 13 000,分离度均大于 1.5。

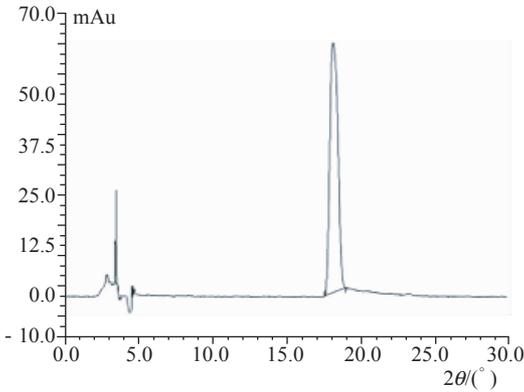


图1 (对照品)溶液色谱图

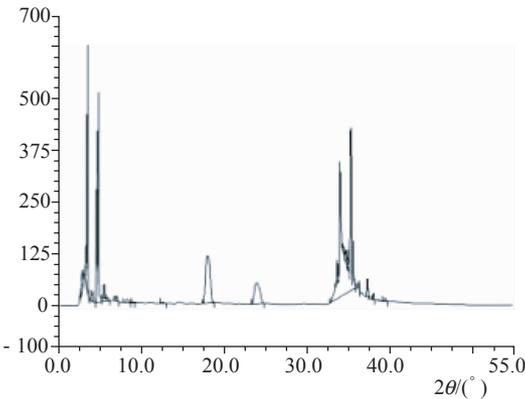


图2 (供试品)溶液色谱图

4 方法学考察

4.1 线性关系考察

精密吸取对照品溶液 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20 μL 注入色谱仪,按上述色谱条件测定峰面积,并以峰面积积分值(Y)对进样量($X, \mu\text{g}$)进行线性回归,得回归方程: $Y = 1.8347X - 33.4, r = 0.9999$,表明芍药苷在 0.339 $\mu\text{g}/\text{mL}$ —3.782 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内与峰面积呈良好线性关系。

4.2 精密度考察

取 2.1 中对照品溶液,注入液相色谱仪测定,重复进样 6 次,每次 10 μL ,测定峰面积,结果峰面积平均值为 2 230.7, RSD 为 0.46% ($n = 6$),表明本方法精密度良好。

4.3 稳定性试验

取通天口服液供试品溶液,分别在 0 h、2 h、4 h、8 h、12 h 进样 10 μL ,测定峰面积,结果峰面积平均值为 2 217.5, RSD 为 1.09% ($n = 5$),表明 12 h 内各成分基本稳定。

4.4 重复性试验

取同一批样品(批号:),平行 6 次取样制备供试品溶液,测定峰面积并计算含量,结果平均含量为 13.56 mg/g , RSD = 1.50% ($n = 6$),表明本方法重现性良好。

4.5 加样回收率试验

精密称取已知含量的同一批样品(批号:09040026),分别精密加入一定量的芍药苷对照品,按供试品溶液制备项下操作,制备供试品溶液,并按规定的色谱条件测定含量,计算回收率,结果平均回收率为 100.03%, RSD = 1.79% ($n = 6$)。结果见表 1。

表1 通天口服液加样回收率测定结果($n = 6$)

样品含量 /mg	对照品加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%
3.534	2.732	6.298	101.17
3.441	2.732	6.134	98.57
3.477	3.011	6.554	102.19
3.496	3.011	6.512	100.17
3.515	3.225	6.700	98.76
3.485	3.225	6.687	99.29
RSD/%		1.79	
平均回收率/%			100.03

4.6 样品测定

取本品约 0.5 g,精密称定,按第 2.2 中供试品溶液制备方法操作,精密吸取供试品溶液 10 μL ,按上述色谱条件测定,共测定 3 批样品。结果见表 2。

表2 通天口服液的含量测定结果($n = 3$)

批号	芍药苷/mg	相对标准偏差/%
09040026	5.645	
09030003	5.598	2.51
09030024	5.667	

5 讨论

1) 结合中国药典 2005 年版中的方法, 考察了甲醇、乙醇、50% 甲醇、稀乙醇作为溶剂进行提取并测定, 结果含量有一定差异。甲醇、乙醇提取的溶出成分中杂质较多, 而 50% 甲醇提取的杂质峰较少, 待测组分的峰形最好且芍药苷的含量最高, 故确定以 50% 甲醇为提取溶剂。

2) 试验中对比考察了恒温加热蒸馏法和超声提取法, 结果表明经超声提取法测得的芍药苷含量明显较高。同时在以 50% 甲醇作为提取溶剂的前提下, 考察了不同超声时间 15 min, 30 min, 45 min, 60 min 所提取的芍药苷含量, 结果以 45 min 含量最高, 60 min 反而有所下降, 可见温度对芍药苷的测

定影响较大。

3) 中药复方制剂中含芍药苷并对其进行含量测定的已有报道^[1,2], 但由于中药制剂内部成分的复杂性, 需要针对不同的制剂进行具体的实验条件摸索以达到有效控制产品质量, 从而保证疗效。实验结果表明, 采用甲醇超声提取, 高效液相色谱法分离测定通天口服液中芍药苷的含量, 简便、准确、重复性好, 能够有效地控制该制剂的质量, 可作为通天口服液质量控制标准中的含量测定方法。

参 考 文 献

- 1 袁 斌, 贺红军, 周春阳, 等. RP-HPLC 法测定桂枝茯苓软胶囊中芍药苷的含量. 川北医学院学报, 2009; 24(2): 121—123
- 2 刘爱玲, 张 盛, 张 胜, 等. 高效液相色谱法测定妇血荣胶囊中芍药苷的含量. 现代生物医学进展, 2009; 9(8): 1529—1530

Determination of Paeoniflorin in Tongtian Oral Liquid by RP-HPLC

YAO Shu-sen, YANG Jie¹

(Chinese PLA Center Office for Disease Control and Prevention, Beijing 100850, P. R. China;

Department of Pharmacy, Chinese PLA General Hospital¹, Beijing 100853, P. R. China)

[Abstract] A RP-HPLC method for determining paeoniflorin in Tongtian oral liquid is established. The content of paeoniflorin in Tongtian oral liquid was determined by RP-HPLC. Kromasil C18 column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) was used, with a mobile phase of A (acetonitrile) - B (0.1% phosphoric acid), and with a gradient elution. The column temperature was 30°C, the detection wavelength was 230 nm, and the injection volume was 10 μL. The linear range of paeoniflorin was 0.339 μg/mL—3.782 μg/mL, $r = 0.9999$. The average recovery of paeoniflorin was 98.75% ($RSD = 1.85%$, $n = 9$). The quantitative method is simple, feasible and reproducible, and can be used for quality control of Tongtian oral liquid.

[Key words] HPLC paeoniflorin traditional Chinese medicine patent preparations determination