

SPE-HPLC法测定冠心II号中芍药苷的含量

叶冠, 韩澎, 郭洪祝, 果德安*

(北京大学药学院 中医药现代研究中心, 北京 100083)

冠心II号方由丹参、红花、赤芍、川芎、降香组成, 有活血化瘀、理气止痛之功, 用于气滞血瘀的胸痹、心痛等症^[1]。芍药苷为其主要有效成分。以芍药苷作为中成药的质控指标, 采用HPLC法测定已有许多报道^[2,3], 供试品处理大都采用超声提取、离心进样的方法, 但一般供试品的成分较复杂, 检测基线提高, 很难达到基线分离要求。本实验根据冠心II号水溶性的特点, 采用固相萃取(SPE)技术, 选出最佳萃取条件, 简化了样品前处理步骤, 节省了分析时间, 获得了良好的测定效果。

1 仪器与试剂

美国 Agilent 1100 Series 高效液相色谱仪; Maxi-CleanTM 固相萃取小柱 (300 mg C₁₈) 购自美国奥泰(中国)有限公司; 芍药苷对照品购自中国药品生物制品检定所; 水为重蒸馏水; 甲醇为色谱纯。

冠心II号为本中心自制煎剂, 该复方药材粉碎后分别用 8, 6, 6倍量水煎煮提取 3次, 每次 1 h, 合并提取液, 减压浓缩, 真空干燥, 得干粉。批号分别为 010722, 020524, 020723。

2 方法和结果

2.1 色谱条件: 色谱柱 Inertsil ODS3 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (40:60); 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 室温, 进样量: 10 μL。

2.2 对照品溶液配制: 取芍药苷对照品约 2 mg, 精密称定, 置于 5 mL 容量瓶中, 用流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密量取 1 mL 置于 10 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀备用。

2.3 供试品溶液的制备: 精密称定冠心II号粉 14.5 mg, 加水定容于 1 mL 容量瓶中。取 1支 Maxi-CleanTM 固相萃取小柱装于 5 mL 注射器上, 依次通过 5 mL 甲醇及 5 mL 水活化后, 再通过上述供试品水溶液, 用 5 mL 水清洗一次, 再用 4 mL 20% 甲醇溶液洗脱, 收集洗脱液于 5 mL 量瓶中, 加 20% 甲醇溶液稀释至刻度, 摇匀, 滤过即得。

2.4 阴性对照溶液的制备: 除去赤芍的其他几味药

按原方配伍, 按冠心II号制法制得。取该阴性供试品 10.2 mg, 按 2.3项下方法制得阴性对照溶液。

2.5 检测波长的选择: 将对照品溶液按上述色谱条件进样, 经 DAD 210~400 nm 全波长扫描, 结果芍药苷在 230 nm 有最大吸收。

2.6 可行性试验: 取对照品溶液、阴性对照溶液、供试品溶液进样分析, 结果阴性对照在供试品溶液相应位置上没有干扰, 说明冠心II号中其他药味对赤芍芍药苷的定量测定没有干扰。色谱图见图 1。

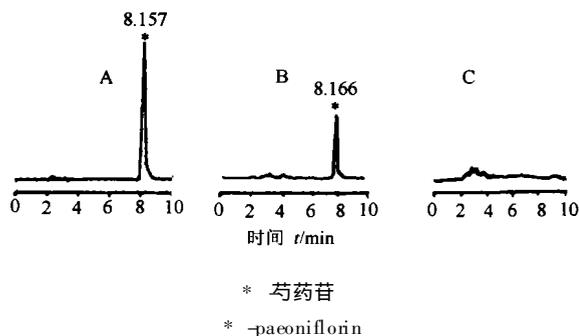


图 1 芍药苷对照品 (A)、冠心II号供试品 (B) 和阴性对照 (C) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of paeoniflorin (A), Guanxin II (B) and negative sample (C)

2.7 线性范围: 精密吸取芍药苷对照品溶液 5, 10, 15, 20, 30, 40 μL 依次进样, 按上述色谱条件测定峰面积。以峰面积积分值对进样量进行线性回归, 得回归方程 $Y = 48.25X - 2.695$, $r = 0.9999$ 表明芍药苷在 0.2~1.6 μg 与峰面积呈良好的线性。

2.8 精密度试验: 精密吸取同一对照品溶液, 重复进样 5次, 测定芍药苷峰面积, 其 RSD 为 0.78%。

2.9 稳定性试验: 对同一供试品溶液在 0, 4, 8, 12, 16, 24 h 进样, 测定芍药苷峰面积, 其 RSD 为 0.27%。

2.10 加样回收率试验: 取已知芍药苷含量的冠心II号粉 (批号为 010722), 平行操作 5份, 精密加入 0.4 mg/mL 的芍药苷对照品溶液 40 μL, 照 2.3项下方法制备供试品溶液, 测定回收率。结果平均回收

* 收稿日期: 2002-11-13

作者简介: 叶冠 (1974-), 男, 江苏人, 在读博士, 主要从事天然产物的分离及天然产物的代谢研究。E-mail: yg4847@sina.com

* 通讯作者 Tel (010) 82801516 Fax: (010) 82802700

率为 97.7%, RSD 为 0.62%。

2.11 供试品测定: 取各批号的供试品按 2.3 项下制备供试品溶液, 按上述色谱条件测定, 外标法定量。结果见表 1

表 1 冠心 II 号中芍药苷的含量测定结果 (n=3)

Table 1 Results of determination of paeoniflorin in Guanxin II (n=3)

批号	芍药苷含量 %	RSD %
010722	1.06	0.67
020524	1.08	0.72
020723	1.10	0.78

3 讨论

3.1 为了降低背景吸收及减少干扰组份对测定的影响, 制备了洗脱分布曲线。照 2.3 项方法处理, 以 5 mL 水为清洗溶剂, 以 4 mL 水及 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% 甲醇溶液为洗脱

溶液, 依次洗脱固相萃取小柱, 分别收集洗脱液于 11 个 5 mL 量瓶中, 以相应的洗脱溶剂稀释至刻度, 摇匀, 测定。结果水洗脱小柱时, 无芍药苷洗脱下来, 10% 甲醇可以洗脱出芍药苷, 30% 甲醇洗脱液已经无芍药苷, 20% 甲醇洗脱液芍药苷的含量最高。故选用水为清洗溶液, 20% 甲醇溶液作为洗脱溶液。

3.2 由方法学考察结果可见, 本法精密度高, 稳定性和重现性好, 可用于该制剂的质量控制。

References

- [1] Chen Q. *Pharmacology and Clinical Application of Famous Chinese Traditional Patent Medicine* (中成药名方药理与临床) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1998.
- [2] Liang H, Wang C F. Determination of paeoniflorin in Bazhen Pill by HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1999, 19(1): 44-46.
- [3] Zhang L, Ha Y H, Liang H. Determination of the content of paeoniflorin in Shexiang Kangshuan Pill by HPLC [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2002, 19(1): 41-42.

《西北药学杂志》2004年征订启事

《西北药学杂志》是由西安交通大学和中国药学会陕西分会主办, 国内外公开发行的综合性药学学术刊物, 在陕西省科技期刊审评中连年获一等奖。本刊设有药物分析、中药及天然药物、药理、药剂、药物与临床、药事管理、科研简报、方法改进、问题讨论、综述、药学人物、不良反应、经验、文摘、信息、读者园地等栏目。

本刊为双月刊, 大 16 开版本, 48 页, 每双月 25 日出版。国内统一刊号: CN 61-1108/R; 国际标准连续出版物号: ISSN 1004-2407; 国内邮发代号: 52-106; 国外发行代号: BM 6523 定价 5.00 元 (含邮费), 全年 30.00 元。欢迎广大读者到当地邮局订阅, 也可直接汇款到本刊编辑部订阅。

编辑部地址: 西安市朱雀大街南段 205 号 西安交通大学 (医学校区)《西北药学杂志》编辑部 邮政编码: 710061

电话、传真: (029) 5275134 E-mail: xbyyz@263.net http://XBYZ.Chinajournal.net.cn

《天津中医药》2004年征订启事

《天津中医药》(原名《天津中医》)创刊于 1984 年, 是由天津市卫生局主管, 天津中医学院、天津中医药学会和天津中西医结合学会主办的综合性中医药学术期刊。本刊设有专家论坛、名医精粹、青年学者论坛、临床论著、学术争鸣、中西医结合、针灸与推拿、理论探讨、实验研究、中药现代化、情志医学、博士之窗、国际交流、留学生园地、临床报道、验案举隅、基层医生园地、科研动态、综述等专栏, 以满足广大读者日益增长的需要。

请新老读者注意 2004 年征订日期, 及时到当地邮局办理征订手续。本刊国内外公开发行, ISSN 1672-1519, CN: 12-1349 国内邮发代号: 6-83, 国外发行代号: 1040-BM, 每册定价 6.00 元。

邮购地址: 天津市南开区玉泉路 88 号《天津中医药》编辑部 邮编: 300193

电话: (022) 23051018 传真: (022) 27470216 E-mail: xuebaobj@tjutc.edu.cn

美国 ALPHA 实验室认可

美中国际合作中国企业

葡萄籽提取物

(原花青素 ≥ 95%)

专业生产厂家

电话: 0086-022-26721040; 26723305; 26737125 传真: 0086-022-26721041

网址: <http://www.jf-natural.com>

Tianjin Jianfeng Natural Product R & D Co., Ltd

天津尖峰天然产物公司

天津北辰科技园科园路