

• 制剂与质量 •

HPLC 法测定白芍总苷胶囊中芍药内酯苷、芍药苷和苯甲酰芍药苷

王巧^{1,2}, 刘荣霞^{1,2}, 毕开顺², 果德安^{1*}

(1. 北京大学 中医药现代研究中心, 北京 100083; 2. 沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 建立 HPLC 对白芍总苷胶囊中芍药内酯苷、芍药苷和苯甲酰芍药苷同时定量的分析方法。方法 采用 HPLC 法。色谱柱: Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: A 为乙腈, B 为 0.015% 磷酸溶液, 梯度洗脱程序为: 0 min (8% A), 5 min (12% A), 20 min (20% A), 25 min (20% A); 35 min (45% A), 40 min (45% A); 检测波长: 230 nm; 柱温: 30 °C。结果 芍药内酯苷、芍药苷和苯甲酰芍药苷质量浓度与峰面积均呈良好的线性关系。平均回收率芍药内酯苷为 96.99%, RSD 为 0.56%; 芍药苷为 103.6%, RSD 为 0.77%; 苯甲酰芍药苷为 104.2%, RSD 为 1.35% (n=5)。结论 该方法分离度好, 简便易行, 具有良好的重现性, 可用于白芍总苷胶囊中芍药内酯苷、芍药苷和苯甲酰芍药苷的同时测定。

关键词: 白芍总苷胶囊; 芍药内酯苷; 芍药苷; 苯甲酰芍药苷; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02 **文献标识码:** B **文章编号:** 0253-2670(2005)11-1630-03

HPLC Determination of albiflorin, paeoniflorin, and benzoylpaeoniflorin in Total Glucoside of Paeony Capsule

WANG Qiao^{1,2}, LIU Rong-xia^{1,2}, BI Kai-shun², GUO De-an¹

(1. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Peking University, Beijing 100083, China;

2. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: Objective An HPLC method was developed for the determination of albiflorin, paeoniflorin, and benzoylpaeoniflorin in Total Glucoside of Paeony Capsule (TGPC). **Methods** HPLC analysis was performed on a Zorbax SB-C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) with mixture of acetonitrile (A) and 0.015% phosphoric acid solution as mobile phase in gradient mode. The concentrations of solvent A were 8%, 12%, 20%, 20%, 45%, and 45% at 0, 5, 20, 25, 35, and 40 min, respectively; the detection wavelength was 230 nm and the column temperature was 30 °C. **Results** The standard curves of albiflorin, paeoniflorin, and benzoylpaeoniflorin showed a good linearity and the average recoveries were 96.99% with RSD 0.56% for albiflorin, 103.6% with RSD 0.77% for paeoniflorin, and 104.2% with RSD 1.35% for benzoylpaeoniflorin (n=5), respectively. **Conclusion** The method is quick, simple, and repeatable for the determination of albiflorin, paeoniflorin, and benzoylpaeoniflorin in TGPC simultaneously.

Key words: Total Glucoside of Paeony Capsule (TGPC); albiflorin; paeoniflorin; benzoylpaeoniflorin; HPLC

白芍总苷(total glucoside of paeony, TGP)是由白芍的干燥根中提取的有效部位,含有芍药苷、芍药内酯苷、羟基芍药苷和苯甲酰芍药苷等单萜苷类成分。现代药理及临床研究发现,TGP具有多途径抑制自身免疫反应,以及抗炎、止痛、保肝的作用,对类风湿性关节炎有确切疗效^[1],其制剂白芍总苷胶囊(商品名:帕夫林)临床上主要用于类风湿性关节炎的治疗。一般以芍药苷作为单一剂量指标来控制白芍总苷的质量^[2,3]。

本实验采用 HPLC 法同时测定了白芍总苷胶囊中的 3 种主要成分:芍药苷、芍药内酯苷和苯甲酰芍药苷,以期建立该制剂科学合理的质量控制方法提供依据。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱系统:包括 G1379A 脱气机,G1311A 四元泵,G1313A 进样器,G1316A 柱温箱,G1315B 检测器和分析工作站。芍药苷对照品购自中国药品生物制品检定所;芍药内酯苷和苯

收稿日期:2005-02-25

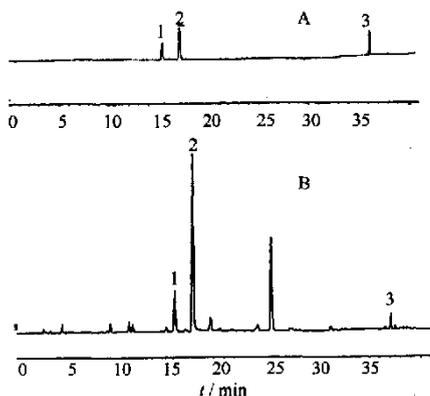
基金项目:国家科技部资助项目(2002BA906A29);国家中医药管理局资助项目(2004ZX01)

* 通讯作者 果德安 Tel:(010) 82801516 Fax:(010) 82802700 E-mail:gda@bjmu.edu.cn

甲酰芍药苷均由本实验室自制,采用UV、¹H-NMR、¹³C-NMR和MS法鉴定结构,经HPLC纯度检查,符合定量要求。白芍总苷胶囊由三九医药股份有限公司生产。乙腈(色谱纯),无水乙醇、磷酸(分析纯),水为双蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:Zorbax SB-C₁₈色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相采用二元体系,A为乙腈,B为0.015%磷酸溶液,梯度洗脱程序为0 min (8% A), 5 min (12% A), 20 min (20% A), 25 min (20% A); 35 min (45% A), 40 min (45% A);体积流量为1.0 mL/min;检测波长为230 nm;柱温为30 ℃。色谱图见图1。



1-芍药内酯苷 2-芍药苷 3-苯甲酰芍药苷
1-albiflorin 2-paeoniflorin 3-benzoylpaeoniflorin

图1 对照品(A)和白芍总苷胶囊(B)色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substances (A) and TGPC (B)

2.2 对照品溶液的制备:精密称取对照品芍药内酯苷12.8 mg、芍药苷22.2 mg、苯甲酰芍药苷6.0 mg,分别置10 mL量瓶中,加甲醇溶解,并稀释至刻度,作为储备溶液。分别精密吸取上述各储备溶液1.0 mL置同一10 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备:取本品内容物约20 mg,精密称定,置10 mL量瓶中,加甲醇约8 mL,超声处理使样品全部溶解,放冷至室温,加甲醇至刻度,摇匀。精密吸取上述溶液1.0 mL置5 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,0.45 μm微孔滤膜滤过,即得供试品溶液。

2.4 标准曲线的制备:精密吸取对照品溶液0.04、0.1、0.2、0.4、0.8、1.0、1.5、1.8 mL,分别置2 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,分别进样5 μL,记录色谱图和峰面积。以各成分峰面积(Y)为纵坐

标,质量浓度(X)为横坐标,绘制标准曲线,得线性回归方程。芍药内酯苷: $Y=5.5963X+1.0124$, $r=0.99995$,线性范围为2.56~115.2 μg/mL;芍药苷: $Y=6.6015X-0.8197$, $r=0.99998$,线性范围为4.44~199.8 μg/mL;苯甲酰芍药苷: $Y=10.7627X+0.7010$, $r=0.99994$,线性范围为1.2~54.0 μg/mL。

2.5 精密度试验:取同一供试品溶液重复进样6次,每次5 μL,测定峰面积。芍药内酯苷、芍药苷和苯甲酰芍药苷6次峰面积测定结果的RSD分别为1.43%、1.42%和1.26%。

2.6 重现性试验:取批号20030701白芍总苷胶囊样品各6份,按供试品溶液的制备方法制备6份供试品溶液,分别进样5 μL,测定峰面积,计算其质量分数。芍药内酯苷、芍药苷和苯甲酰芍药苷6次质量分数测定结果的RSD分别为1.69%、1.73%和1.77%。

2.7 稳定性试验:取同一供试品溶液分别在0、1、2、4、6、12、24 h进样(不测定时于冰箱4 ℃冷藏),测定峰面积。结果表明,供试品溶液在24 h内稳定性良好,芍药内酯苷、芍药苷和苯甲酰芍药苷峰面积的RSD分别为1.86%、1.38%、2.06%。

2.8 加样回收率试验:精密称取白芍总苷胶囊(批号:20030701)5份,各约10 mg,分别精密加入一定量的芍药内酯苷、芍药苷和苯甲酰芍药苷对照品混合溶液(含芍药内酯苷0.512 mg、芍药苷0.888 mg和苯甲酰芍药苷0.024 mg),制备供试品溶液,测定各成分峰面积,计算回收率。结果芍药内酯苷的平均回收率为96.99%,RSD为0.56%;芍药苷的平均回收率为103.6%,RSD为0.77%;苯甲酰芍药苷的平均回收率为104.2%,RSD为1.35%。

2.9 样品测定:分别取不同批号的白芍总苷胶囊约20 mg,按上述方法制备供试品溶液,分别进样5 μL,测定峰面积,根据标准曲线计算样品中芍药内酯苷、芍药苷和苯甲酰芍药苷的质量分数。每批样品测定3份,以3次测定结果的平均值作为测定值,结果见表1。

3 讨论

考察提取溶剂时,曾对甲醇和75%、50%甲醇液进行了比较,发现三者均可将芍药苷、芍药内酯苷和苯甲酰芍药苷3种成分充分提取。但含水甲醇液即使经过超声处理也不能使样品完全溶解,样品溶液混浊,需经滤过后进行测定。而纯甲醇液可将样品完全溶解,溶液澄清,免于滤过,使测定过程简单易行。

表 1 白芍总苷胶囊中芍药内酯苷、芍药苷和
苯甲酰芍药苷的测定结果 (n=3)

Table 1 Albiflorin, paeoniflorin, and benzoyl-
paeoniflorin in TGPC (n=3)

批号	芍药内酯苷		芍药苷		苯甲酰芍药苷	
	质量分数/ (mg·g ⁻¹)	RSD/ %	质量分数/ (mg·g ⁻¹)	RSD/ %	质量分数/ (mg·g ⁻¹)	RSD/ %
20030701	94.77	2.06	367.13	1.73	22.08	1.54
20021003	83.17	2.06	384.01	1.87	20.20	1.44

利用二级管阵列检测器对芍药苷、芍药内酯苷和苯甲酰芍药苷在 190~400 nm 波长进行扫描,经比较,三者在 230 nm 波长处均有最大吸收,故选择 230 nm 作为检测波长。

化合物在色谱柱上的保留行为与其化学结构有关。苯甲酰芍药苷结构中比芍药内酯苷和芍药苷多一苯环,这一苯环结构使其与其他二者的色谱行为产生巨大差别,以至在反相色谱柱上采用等度洗脱时,苯甲酰芍药苷的保留时间远远长于芍药苷和芍药内酯苷,甚至不能洗脱或即使洗脱也因其保留时间过长峰形过宽而无法定量。故等度洗脱不适宜同时测定这 3 种成分。本实验采用梯度洗脱,可缩短分析时间,并同时定量 3 个成分。

在流动相中加入酸可改善芍药内酯苷的峰形。在酸的选择上,比较了相同 pH 值的冰醋酸、甲酸和磷酸溶液,发现加入冰醋酸,基线噪音大,且漂移严重;甲酸可使基线噪音明显减少,但当流动相中酸溶液比例较大时,基线仍不平衡;而磷酸可消除基线噪音和漂移现象,基线平稳,故采用磷酸。

白芍总苷胶囊中含有多种单萜苷类成分,且这些成分均有药理活性,故测定 3 种单萜苷比仅单一测定芍药苷更能有效控制其质量。本实验所建方法简单易行、重现性好,可同时测定芍药苷、芍药内酯苷和苯甲酰芍药苷 3 种有效成分,为白芍总苷胶囊的质量控制提供了一种新方法。

References:

[1] Zhou Q, Li Z G. Pharmaceutical effects of total glucosides of peony and its application in autoimmune disease [J]. *Chin J New Drugs Clin Rem* (中国新药与临床杂志), 2003, 22 (11): 687-691.
 [2] Chen Y C, Mu H C, Liu S Q. Determination of paeoniflorin in Total Glucosides of Paeony Capsules by high performance capillary electrophoresis (HPCE) [J]. *Pharm J Chin PLA* (解放军药学报), 2002, 18 (2): 107-108.
 [3] Qian Y N, Liu X S, Zhang X F. Quantitative determination of paeoniflorin in paeonialbiflosides by HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1995, 26 (7): 349-350.

HPLC 法测定大麦芽中麦黄酮

凌俊红¹, 王楠¹, 任玉珍², 王龙虎², 王金辉^{1*}, 李锐¹

(1. 沈阳药科大学, 辽宁 沈阳 110016; 2. 中国药材集团公司, 北京 100007)

摘要:目的 建立用 HPLC 测定大麦芽中麦黄酮的方法。方法 采用色谱柱 Spherigel C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水-四氢呋喃-甲酸(26:74:10:1), 检测波长 350 nm, 体积流量 1.0 mL/min, 进样量 20 μL。结果 麦黄酮在 0.22~2.15 mg/L (r=0.999 8) 峰面积与质量浓度呈良好的线性关系; 平均回收率为 97.4%, RSD 为 1.7% (n=9)。结论 该方法可用于大麦芽中麦黄酮的测定。

关键词:麦芽; 麦黄酮; 高效液相色谱

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2005)11-1632-03

Determination of tricin in malt by HPLC

LING Jun-hong¹, WANG Nan¹, REN Yu-zhen², WANG Long-hu², WANG Jin-hui¹, LI Xian¹

(1. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 2. Group of Medicinal Herbs of China, Beijing 100007, China)

Abstract: Objective To develop an HPLC method for the quantitative analysis of tricin in malt.

Methods HPLC method was used. Analysis was performed on Spherigel C₁₈ column (150 mm×4.6 mm, 5 μm) with acetonitrile-water-tetrahydrofuran-methanoic acid (26:74:10:1) as mobile phase. The

收稿日期:2005-01-31

基金项目:国家“十五”重大科技专项资助项目(2001BA701A55-50); 国家自然科学基金资助项目(30472190)

作者简介:凌俊红(1979-), 女, 吉林榆树人, 在读硕士研究生。E-mail: lingjunhong@yahoo.com.cn

* 通讯作者 王金辉 Tel: (024) 23986478 Fax: (024) 23986479 E-mail: wangjh1972@vip.sina.com