

RP-HPLC 测定痛经宁胶囊中芍药苷的含量

江帆¹, 郭培果², 蔡晓静¹ (1. 贵州师范大学分析测试中心, 贵阳 550001; 2. 贵州科瑞特医药科技开发研究所, 贵阳 550001)

摘要: 目的 建立痛经宁胶囊中芍药苷的 HPLC 含量测定方法。方法 采用 Hypersil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-0.1%磷酸(15:85)为流动相; 检测波长 230 nm; 流速: 1.0 mL·min⁻¹, 柱温: 30 ℃。结果 芍药苷在 0.256~1.536 μg 内线性关系良好, $r=0.9999$, 平均回收率为 99.49%, RSD=0.56%($n=9$)。结论 该方法简便、准确、重复性好、可作为痛经宁胶囊的含量测定方法。

关键词: 痛经宁胶囊; 芍药苷; 反相高效液相色谱法

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2010)08-0741-03

作者简介: 江帆, 女, 硕士, 主任药师

Tel: (0851) 6690018

E-mail: dyjiangfan@126.com

Determination of Paeoniflorin in Tongjingning Capsules by RP-HPLC

JIANG Fan¹, GUO Peiguo², CAI Xiaojing¹(1.The Analysis and Testing Center in Guizhou Normal University, Guiyang 550001, China; 2.Guizhou kerui-te Institute of Pharmaceutical Science and Technology, Guiyang 550001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for determining the concentration of paeoniflorin in Tongjingning capsules by RP-HPLC. **METHODS** RP-HPLC was used. Chromatography conditions: Hypersil C₁₈ column(250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase consists of acetonitrile-0.1% phosphoric(15 : 85), the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, the detective wavelength was set at 230 nm, and column temperature was 30 °C. **RESULTS** The calibration curve was linear in the range of 0.256–1.536 μg for paeoniflorin($r=0.999\ 9$). The average recovery of paeoniflorin was 99.46% and RSD was 0.56% ($n=9$). **CONCLUSION** The method is simple and accurate with good repeatability, which can be used for the quality control of Tongjingning capsules.

KEY WORDS: Tongjingning capsules; paeoniflorin; RP-HPLC

痛经宁胶囊由当归、白芍、香附、延胡索、川芎、甘草、丹参、川楝子及红花等 9 味药材组成, 具有调经止痛等功效。用于月经不调, 经前、行经期腹痛等^[1]。本品原剂型为糖浆剂^[2], 为了给患者提供更多的剂型选择, 笔者研制了本剂型, 以便提高产品的稳定性, 更方便药品的运输、储藏和服用。由于原质量标准无含量测定项^[2], 为了更好的控制药品质量, 本研究建立了痛经宁胶囊中芍药苷的 RP-HPLC 含量测定方法。方法学研究表明, 该方法简便、准确, 重复性好, 可作为该制剂的质量控制方法。

1 仪器与药品

LC-10A_{TVP} 高效液相色谱仪, SPD-10A_{VP} 紫外检测器, 岛津 CS-Light 中文版色谱工作站, 岛津 UV-1700 型紫外可见分光光度计, HT-230A 色谱柱恒温箱。

芍药苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 110736-200422, 供含量测定用); 痛经宁胶囊试验用样品由贵州科瑞特医药科技开发研究所提供; 甲醇、乙腈为色谱纯, 水为重蒸馏水。其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液

精密称取在五氧化二磷减压干燥器中干燥 36 h 的芍药苷对照品 12.80 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加稀乙醇稀释至刻度, 摇匀, 即得浓度为 0.512 mg·mL⁻¹ 芍药苷对照品储备液。

精密吸取储备液 5 mL, 置于 50 mL 量瓶中, 加稀乙醇稀释至刻度, 摇匀, 即得浓度为 51.20 μg·mL⁻¹ 芍药苷对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备

取装量差异项下的本品内容物, 研细, 取

0.25 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入稀乙醇 25 mL, 称定重量, 超声提取 60 min, 取出, 放冷, 用稀乙醇补足减失的重量, 摇匀, 用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤, 取续滤液作为供试品溶液。

2.3 阴性对照液

除白芍药材外, 其余 8 味药材, 按 1/10 个处方量取样, 照样品制备工艺操作, 制成缺白芍的阴性样品颗粒, 精密称取 0.25 g, 置具塞锥形瓶中, 照“2.2”项下方法操作, 得阴性对照液, 备用。

2.4 色谱条件

以 Hypersil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm) 为色谱柱, 柱温 30 °C: 以乙腈-0.1%磷酸(15 : 85) 为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长为 230 nm, 进样量 10 μL。

2.5 方法学研究

2.5.1 系统适应性测定 分别吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性样品溶液及空白溶剂(稀乙醇) 各 10 μL, 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件进行试验。结果: 芍药苷保留时间约为 9.4 min; 芍药苷理论板数可达到 5 000 以上; 芍药苷与前后 2 个组分的分离度均大于 1.5, 达到完全分离; 其他药材及空白溶剂均对测定无干扰。结果见图 1。

2.5.2 线性关系的考察 分别吸取对照品储备液(浓度: 0.512 mg·mL⁻¹) 2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 12.5, 15.0 mL 置 50 mL 量瓶中, 加乙醇稀释至刻度, 0.45 μm 滤膜过滤, 精密吸取各溶液 10 μL, 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件进行试验, 以峰面积为纵坐标, 进样量(μg) 为横坐标绘制标准曲线, 芍药苷回归方程为: $Y=1\ 193\ 550.73X+327.16$, $r=0.999\ 9$, 如拟合为过原点的方程为: $Y=1\ 193\ 865.10X$, $r=0.999\ 9$ 。将最低点和最高点分别代入上述回归方程, 按上式计算偏差, 结果均小于 1.0%, 故本

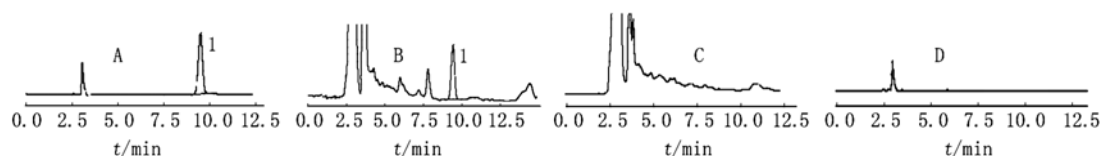


图1 高效液相色谱图

A-芍药苷对照品; B-痛经宁胶囊样品; C-空白芍药阴性对照; D-空白溶剂; 1-芍药苷

Fig 1 HPLC chromatogram

A-paeoniflorin reference substances; B-Tongjingning capsules; C-negative solution without paeoniflorin; D-blank solution; 1-paeoniflorin

品可采用一点法测定。

2.5.3 中间精密度试验 两个研究者分别于不同日期取同一批号样品内容物各3份, 每份0.25 g, 精密称定, 按“2.2”项下方法处理, 依法测定, 以峰面积计, 第1日结果: $0.202 \text{ mg} \cdot \text{粒}^{-1}$ (RSD为0.63%), 第2日结果: $0.203 \text{ mg} \cdot \text{粒}^{-1}$ (RSD为0.54%), 第3日结果: $0.205 \text{ mg} \cdot \text{粒}^{-1}$ (RSD为0.55%), 日间精密度RSD为0.75%。

2.5.4 稳定性试验 取本品内容物粉末0.25 g, 精密称定, 按“2.2”项下方法处理, 精密吸取10 μL , 分别于0, 1, 2, 4, 6, 8, 10 h进样, 峰面积RSD为0.55%。

2.5.5 重复性试验 分别取同批号样品内容物粉末5份, 每份0.25g, 精密称定, 按“2.2”项下方法处理, 依法测定, 芍药苷平均含量为0.5018%, RSD=0.55%。

2.5.6 回收率试验 取含芍药苷0.5018%的痛经宁胶囊内容物约0.125 g, 9份, 精密称定, 分置9个具塞锥形瓶中, 分别精密加入芍药苷对照品溶液($51.20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)10, 12.5, 15mL各3份, 按“2.2”项下方法处理, 进样测定, 计算, 结果平均回收率为99.49%($n=9$), RSD=0.56%。结果见表1。

表1 芍药苷加样回收试验结果($n=9$)

Tab 1 Results of recovery of paeoniflorin ($n=9$)

已知量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
0.623 2	0.512 0	1.126 1	98.22		
0.651 3	0.512 0	1.163 1	99.96		
0.647 2	0.512 0	1.153 7	98.93		
0.643 3	0.640 0	1.281 6	99.73		
0.628 3	0.640 0	1.265 0	99.48	99.35	0.56
0.629 8	0.640 0	1.263 8	99.06		
0.629 8	0.768 0	1.395 2	99.66		
0.651 8	0.768 0	1.418 8	99.87		
0.627 2	0.768 0	1.389 7	99.28		

2.6 样品测定

取样品8批, 按“2.2”项下方法处理, 进样测定, 平行测定3份, 采用外标法计算, 取均值, 结果见表2。

表2 痛经宁胶囊含量测定结果($n=3$)

Tab 2 Determination results of Tongjingning capsules($n=3$)

批号	含量/ $\text{mg} \cdot \text{粒}^{-1}$
0051101	1.78
0051102	1.63
20051103	1.86
20051104	1.95
20051105	2.18
20051201	1.93
20051202	2.13
20051203	2.02

3 讨论

对供试品溶液制备的方法进行了研究和比较。分别以甲醇、50%甲醇、乙醇和稀乙醇作溶剂, 考察了不同时间回流提取和超声提取2种方式, 结果以稀乙醇作溶剂较好, 超声提取60 min为最佳, 故选择此条件作为供试品溶液的制备条件。

流动相参考文献[3], 选用甲醇-磷酸二氢钠溶液-醋酸-异丙醇、乙腈-0.1%磷酸、乙腈-水等多个流动相系统进行试验和比较。结果表明, 流动相以乙腈-0.1%磷酸(15:85)较好, 芍药苷峰与其他杂质峰完全分离。

REFERENCES

- [1] SONG Z M, XING S L, LUO M Y, et al. Effect of Tongjingning Granule on primary dysmenorrheal [J]. Chin J Integr Tradit Chin West Med(中国中西医结合杂志), 1999, 25(7): 608-611.
- [2] The traditional Chinese medicine criterion of Ministry of Health volumn XI(卫生部药品标准《中药成方制剂》第11册)[S].1997:189
- [3] WEI Q, GONG D F, KANG H Y. Qualitative and quantitative analysis of Xinnaokang Capsule [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2008, 25(4): 327-330.

收稿日期: 2009-09-07