

缩短为 25 min, 能极大地提高分析速度, 分离度变得更敏锐, 实际应用可减少溶剂等的消耗。

本研究通过高效液相色谱法对贵重药材的有效成分建立含量测定方法, 结果表明该法操作简便、快速、灵敏、重现性好, 可为该制剂的质量控制和标准提升提供科学依据^[7]。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 307-308.
- [2] 陈炳洪. 一种千斤肾安宁药物制剂及其制备方法[P]. 中国专利, CN200510082772.5, 2005.12.28.
- [3] 赵润栓, 陈新政. 中医治疗慢性肾功能衰竭的思路探讨[J]. 现代中医药, 2003, (2): 9-11
- [4] 李耿, 任杰麟, 戴洁, 等. 应用核-壳色谱柱优化参须中人参皂苷含量测定方法研究[J]. 中药材, 2013, 36(1): 73-75.
- [5] 黎耀东, 卢君. HPLC 测定千斤肾安宁片中的人参皂苷 Rg1、Rb1 及三七皂苷 R1 的含量[J]. 中成药, 2008, 30(11): 1631-1634.
- [6] 郑继标, 陈丽莲. HPLC 法测定复方消脂胶囊中人参皂苷 Rg1、Re、Rb1 及三七皂苷 R1 的含量[J]. 亚太传统医药, 2011, 7(11), 32-35.
- [7] 王峰涛. 中药质量标准研究进展与展望[J]. 中国天然药物, 2006, 4(6): 403-410.

(编辑: 邓响潮)

HPLC 法测定颈眩口服液中天麻素和芍药苷的含量

曹伟国^{1,3,4}, 陶燕锋², 谈利红¹, 颜学伟¹, 余保¹, 张丹¹(1. 重庆医科大学中医药学院, 重庆 401331; 2. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810000; 3. 重庆医科大学中医药研究室, 重庆 400016; 4. 重庆医科大学中医药实验教学中心, 重庆 401331)

摘要: 目的 利用高效液相色谱 (HPLC) 法, 建立颈眩口服液中天麻素和芍药苷的含量测定方法。方法 采用 Hypersil ODS2 C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相为乙腈-0.1% 磷酸梯度洗脱, 天麻素与芍药苷的检测波长分别为 220 nm 和 230 nm, 柱温为室温。结果 天麻素在 0.116 ~ 1.160 μg 进样量范围内线性关系良好, 平均加样回收率为 101.11 %, RSD 为 2.51 %; 芍药苷在 0.05 ~ 1.00 μg 进样量范围内线性关系良好, 平均加样回收率为 98.27 %, RSD 为 1.64 %。结论 该方法能简便、灵敏、准确的测定颈眩口服液中天麻素和芍药苷的含量, 可用于该制剂的质量控制。

关键词: 颈眩口服液; 天麻素; 芍药苷; 高效液相色谱; 含量测定

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)06-0743-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.06.024

Determination of Gastrodin and Paeoniflorin in *Jingxuan* Oral Liquid by HPLC

CAO Weiguo^{1,3,4}, TAO Yanduo², TAN Lihong¹, YAN Xuewei¹, YU Bao¹, ZHANG Dan¹(1. Traditional Chinese Medicine College of Chongqing Medical University, Chongqing 401331, China; 2. Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810000 Qinghai, China; 3. The Lab of Traditional Chinese Medicine of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 4. Experimental Teaching Center for Traditional Chinese Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing 401331, China)

Abstract: **Objective** To establish a method for simultaneous determination of gastrodin and paeoniflorin by high performance liquid chromatography in *Jingxuan* oral liquid. **Methods** The analysis was performed on Hypersil ODS2 C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column. The detection was with a mobile phase of acetonitrile-0.1 % phosphonic acid

收稿日期: 2014-05-05

作者简介: 曹伟国, 男, 副教授, 研究方向: 中药与天然药物研究与开发。Email: cwgzd2001@sohu.com。通讯作者: 张丹, 副教授, 研究方向: 中药资源开发与利用。Email: zhangdan01234567@sina.com。

基金项目: 国家“十一五”国家科技支撑计划(2007BA145B00); 重庆市卫生局科研项目(2010-2-146)。

solution at the flow rate of 1 mL·min⁻¹ by gradient elution. The wavelength of detector was set at 220 nm for gastrodin and 230 nm for paeoniflorin, respectively. **Results** The calibration curve of gastrodin and paeoniflorin showed good linear relationship in the range of 0.116~1.160 μg and 0.05~1.00 μg, respectively. And the average recovery was 101.11 % (RSD=2.51 %, n=6) for gastrodin, 98.27 % (RSD=1.64 %, n=6) for paeoniflorin. **Conclusion** The method is simple, sensitive and accurate to determine the content of gastrodin and paeoniflorin in *Jingxuan* oral liquid, and is suitable for the quality control of *Jingxuan* oral liquid.

Keywords: *Jingxuan* oral liquid; Gastrodin; Paeoniflorin; High performance liquid chromatography; Content determination

颈眩口服液是由天麻、当归、川芎、白术、赤芍等 10 余味中药组成的医院制剂，处方由四物汤和半夏白术天麻汤加减化裁而来，具有活血养血、祛痰化痰、通络止眩之功效，临床上用于瘀痰内扰、眩晕等症。天麻为制剂处方中的君药，具有息风止痉、平抑肝阳、祛风通络之功效，赤芍为臣药，具有清热凉血、散瘀止痛之功效^[1]，因此拟选取天麻与赤芍所含的主要有效成分天麻素和芍药苷^[2-4]作为该制剂的质量控制指标。本制剂原质量标准中缺乏含量测定项，本研究采用高效液相色谱法同时测定该制剂中天麻素与芍药苷含量。

1 材料

1.1 仪器及试剂 岛津 LC-20A 高效液相色谱仪，包括 LC solution 色谱工作站，SPD-20A 紫外可见检测器；Millipore 溶剂过滤系统；METTLER TOLEDO XS105DU 电子分析天平；乙腈为色谱纯，水为超纯水，其余试剂均为分析纯。

1.2 药物 天麻素(批号：110807-200205)、芍药苷(批号：110736-201035)，含量测定用，由中国药品生物制品检定所提供；样品颈眩口服液，批号分别为：20110420，20110422，20110426，由重庆市北碚中医院提供。

2 方法与结果

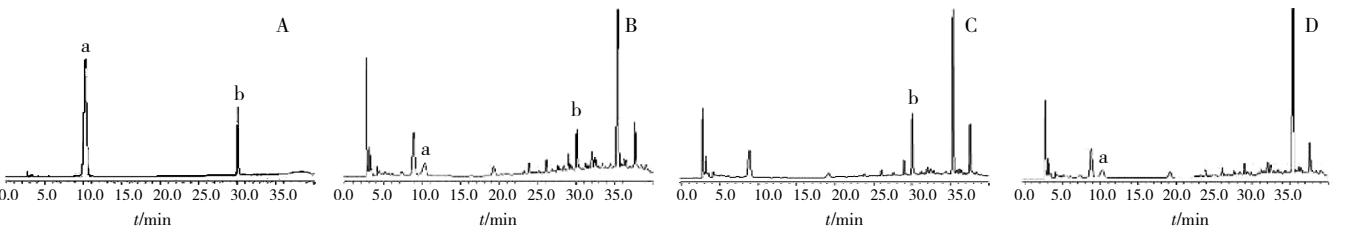
2.1 高效液相色谱条件^[5-7] 色谱柱：Hypersil ODS2 C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)；流动相为乙腈(A) -0.1 %磷酸水溶液 (B)，按表 1 梯度洗脱，流速 1.0 mL·min⁻¹；柱温为室温；进样量 20 μL；检测波长：天麻素 220 nm、芍药苷 230 nm；理论塔板数按芍药苷峰计算应不低于 5000，在此条件下各组分得到良好分离，阴性样品无干扰，液相色谱图见图 1。

表 1 流动相梯度洗脱时间及比例

Table 1 The mobile phase gradient elution time and proportion		
t/min	乙腈 /%	0.1 %磷酸水溶液 /%
0 ~ 12	2→2	98→98
12 ~ 15	2→7	98→93
15 ~ 33	7→30	93→70
33 ~ 40	30→2	70→98

2.2 对照品溶液制备 分别精密称取天麻素 5.8 mg、芍药苷 5.0 mg，各置 100 mL 容量瓶中，加 50 % (体积分数，本文中 50 % 甲醇均表示体积分数为 50 % 的甲醇水溶液) 甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，作为对照品储备溶液(浓度分别为 0.058，0.050 mg·mL⁻¹)。

2.3 供试品溶液制备 将颈眩口服液摇匀，精密吸取 0.2 mL 置 10 mL 容量瓶中，加 50 % 甲醇定容至刻度，



a. 天麻素；b. 芍药苷

图 1 混合对照品(A)、样品(B)、缺天麻阴性对照(C)和缺赤芍阴性对照(D)的高效液相色谱图

Figure 1 The HPLC chromatograms of mixed reference substances(A), the sample of *Jingxuan* Oral Liquid (B), negative sample without *Gastrodia elata* B1.(C) and negative sample without *Paeonia veitchii* Lynch(D)

摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液作为供试品溶液。

2.4 线性关系考察 精密量取天麻素对照品储备液 (0.058 mg·mL⁻¹) 稀释制备浓度为 5.8, 11.6, 23.2, 34.8, 46.4, 58 μg·mL⁻¹ 的对照品溶液。按上述色谱条件, 进样, 测定峰面积, 以色谱峰面积 Y 为纵坐标, 对照品进样量 X 为横坐标, 计算得天麻素的回归方程: $Y=1.632 \times 10^6 X-7.842 \times 10^3$, $r=0.9997$, 结果表明天麻素在 0.116 ~ 1.160 μg 进样量范围内线性关系良好。

精密量取芍药苷对照品储备液 (0.05 mg·mL⁻¹) 稀释制备浓度为 2.5, 5, 10, 20, 40, 50 μg·mL⁻¹ 的对照品溶液。按上述色谱条件, 进样, 测定峰面积。以色谱峰面积 Y 为纵坐标, 对照品进样量 X 为横坐标, 计算得芍药苷的回归方程: $Y=9.205 \times 10^6 X-1.689 \times 10^5$, $r=0.9995$, 结果表明芍药苷在 0.05 ~ 1.00 μg 进样量范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验 在上述色谱条件下, 分别精密吸取天麻素对照品溶液 (58 μg·mL⁻¹) 与芍药苷对照品溶液 (50 μg·mL⁻¹) 各 20 μL, 分别连续进样 6 次测定。天麻素峰面积平均值为 1.861×10^6 , RSD 为 0.91 %, 芍药苷峰面积平均值为 9.390×10^6 , RSD 为 1.1 %, 表明在此色谱条件下, 仪器精密度较好。

2.6 重复性试验 精密量取同一批颈眩口服液 (批号: 20110420) 样品 6 份, 按 2.3 项下供试品溶液的制备方法制备, 在上述色谱条件下测定, 分别进样 20 μL, 按外标法计算其天麻素平均含量为 0.680 mg·mL⁻¹, RSD 为 1.6 %, 芍药苷的平均含量为 0.237 mg·mL⁻¹, RSD 为 1.3 %, 表明本实验方法重复性较好。

2.7 稳定性试验 在上述色谱条件下, 精密吸取在室温放置的颈眩口服液 (批号: 20110420) 供试品溶液分别于 0, 2, 4, 6, 8, 24 h 进样, 测定并计算。天麻素与芍药苷含量的 RSD 分别为 2.1 % 和 1.4 %, 表明颈眩口服液供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.8 加样回收率试验 精密量取已知天麻素与芍药苷含量的颈眩口服液 (批号: 20110420) 样品 0.1 mL, 6 份, 分别置 10 mL 容量瓶中, 各加入天麻素 (58 μg·mL⁻¹) 与芍药苷 (50 μg·mL⁻¹) 对照品溶液适量, 按照 2.3 项下供试品溶液制备方法制备并测定, 计算平均回收率。结果天麻素的平均回收率为 101.11 %, RSD 为 2.51 %, 芍药苷的平均加样回收率为 98.27 %,

RSD 为 1.64 %, 表明本方法具有较好的回收率, 结果见表 2。

表 2 天麻素和芍药苷加样回收率测定结果

Table 2 The results of recovery test of gastrodin and paeoniflorin							
测定成分	取样量	供试品含	对照品加	测得量	回收率	平均回 RSD	
	/mL	有量 /g	入量 /g	/g	/%	收率 /%	/%
天麻素	0.1	68	58	129	105.17	101.11	2.51
	0.1	68	58	126	99.85		
	0.1	68	58	126	100.25		
	0.1	68	58	125	97.07		
	0.1	68	58	128	102.98		
	0.1	68	58	127	101.39		
	0.1	23.7	25	48.5	99.20		
	0.1	23.7	25	48.3	98.40		
芍药苷	0.1	23.7	25	49.0	101.20	98.27	1.64
	0.1	23.7	25	47.8	96.40		
	0.1	23.7	25	48.1	97.60		
	0.1	23.7	25	47.9	96.80		

2.9 颈眩口服液样品中天麻素与芍药苷含量测定 分别精密吸取 3 批颈眩口服液样品的供试品溶液各 20 μL 进样, 重复 3 次, 按上述色谱条件测定, 以外标法计算样品中天麻素与芍药苷的含量, 见表 3, 依据 3 个批次的检测结果, 建议颈眩口服液质量标准中天麻素与芍药苷的含量应分别不低于 0.540 mg·mL⁻¹ 和 0.190 mg·mL⁻¹。

表 3 颈眩口服液样品测定结果

Table 3 The results of conten determination		
批号	天麻素 /mg·mL ⁻¹	芍药苷 /mg·mL ⁻¹
20110420	0.680	0.237
20110422	0.693	0.239
20110426	0.670	0.237

3 讨论

天麻素与芍药苷的含量测定方法报道较多, 本实验所选用液相色谱条件参考了《中国药典》及相关文献^[8-10], 实验中发现天麻素与芍药苷极性相差较大, 等度洗脱条件下, 两者保留时间差别较大, 为缩短分析时间, 本研究采用梯度洗脱法处理, 可在保证分离度的前提下于 40 min 内完成检测。

芍药苷液相色谱峰极易拖尾, 本实验比较了乙腈 -0.05 % 磷酸水溶液和乙腈 -0.1 % 磷酸水溶液两种流动相, 使用乙腈 -0.1 % 磷酸时, 天麻素和芍药苷色谱峰分离度和峰形均较好, 因此选用乙腈 -0.1 % 磷酸水溶液为流动相。

本实验采用 HPLC 法测定颈眩口服液中天麻素与芍药苷的含量,其样品制备方法简单,分离效果理想,分析快速准确,专属性强,精密度高,重现性较好,可为颈眩口服液质量标准的制定提供参考。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 54, 147.
- [2] 谢笑天, 郑萍, 杨明惠, 等. HPLC 法对天麻素及其制剂中天麻素的定量分析[J]. 中草药, 2001, 32(6): 513-515.
- [3] 蒲恒然, 陈娟. 高效液相色谱法测定天麻素片中天麻素的含量[J]. 海峡药学, 2008, 20(12): 57-58.
- [4] 蓝鸣生, 陈路, 覃成芳, 等. 五淋散胶囊中栀子苷和芍药苷的 HPLC 含量测定[J]. 中国新药杂志, 2010, 19(14): 1281-1283.
- [5] 董宇, 狄留庆, 赵晓莉, 等. HPLC 法测定血压平喷雾剂中天麻素、阿魏酸、芍药苷、肉桂酸[J]. 中草药, 2012, 43(2): 296-298.
- [6] 王巧梅, 薛桂蓬, 邢建国, 等. 芪天胶囊中红景天苷和芍药苷的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(1): 88-91.
- [7] 王新娣, 石晓峰, 沈薇, 等. 双波长 HPLC 法同时测定安乳散结丸中芍药苷与迷迭香酸的含量[J]. 中国药房, 2013, 24 (19): 1795-1797.
- [8] 刘亚蓉, 宋霞, 刘海青. 双波长 RP-HPLC 法同时测定妇科十味片中芍药苷、阿魏酸[J]. 中成药, 2013, 35(6): 1222-1224.
- [9] 冯川, 刘唯芬, 慕善学, 等. RP-HPLC 法测定清胰利胆颗粒中天麻素和芍药苷的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2012, 29(3): 219-222.
- [10] 靳淑敏, 杨维, 王伟华, 等. 多波长 RP-HPLC 法测定抗感宁合剂中天麻素、葛根素和芍药苷[J]. 中成药, 2009, 31(1): 75-78.

(编辑: 邓响潮)

HPLC 法同时测定人参-牡丹皮成分组中 6 种有效成分的含量

张留记^{1,2}, 杨明杰¹, 屠万倩² (1. 河南中医学院, 河南 郑州 450008; 2. 河南省中医药研究院, 河南 郑州 450004)

摘要: **目的** 建立 HPLC 法同时测定人参-牡丹皮功效成分组中有效成分人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁、Rd、芍药苷和丹皮酚含量的方法。**方法** 采用 SHIMADZU C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水, 梯度洗脱, 体积流量为 1 mL·min⁻¹; 检测波长: 人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁、Rd 为 203 nm, 芍药苷为 230 nm, 丹皮酚为 274 nm; 柱温: 35 ℃; 进样量: 10 μL。**结果** 人参皂苷 Rg₁、Re、Rb₁、Rd、芍药苷、丹皮酚分别在 1.90~11.40 μg($r=0.9990$), 0.995~5.97 μg($r=0.9994$), 1.575~9.45 μg($r=0.9998$), 1.62~9.72 μg($r=0.9999$), 1.57~9.42 μg($r=0.9990$), 4.56~27.36 μg($r=0.9999$)范围内具有良好的线性关系。平均加样回收率: 人参皂苷 Rg₁ 为 101.10%, RSD=1.80%($n=6$); 人参皂苷 Re 为 98.49%, RSD=2.72%($n=6$); 人参皂苷 Rb₁ 为 100.14%, RSD=1.94%($n=6$); 人参皂苷 Rd 为 99.23%, RSD=2.50%($n=6$); 芍药苷为 100.45%, RSD=2.40%($n=6$); 丹皮酚为 100.20%, RSD=0.64%($n=6$)。**结论** 所建立的方法简便、快速、准确, 具有良好的重复性和稳定性, 可用于人参-牡丹皮功效成分组的质量控制。

关键词: 人参; 牡丹皮; 功效成分组; HPLC; 含量测定

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1003-9783(2014)06-0746-05

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.06.025

Simultaneous Determination of six active ingredients in the Compounds Group of Radix Ginseng and Cortex Moutan by HPLC

ZHANG Liuji^{1,2}, YANG Mingjie¹, TU Wanqian² (1. Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008 Henan, China; 2. Henan Academy of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450004 Henan, China)

收稿日期: 2014-06-10

作者简介: 张留记, 男, 博士, 研究员。研究方向: 中药质量控制和创新药物研究。Email: zlj6666671@163.com。

基金项目: 河南省科技创新人才计划项目(144200510028)。