

25.21 mg·g⁻¹奥红胶囊内容物约 0.35 g,共 6 份,精密称定。分别加入奥美拉唑对照品溶液 4, 6, 8 mL,按“2.4.3”方法制备溶液,按上述色谱条件测定,计算奥美拉唑回收率。结果见表 2。

表 2 奥美拉唑回收率试验结果 (n=2)

Tab 2 Results of recovery test of omeprazole (n=2)

序号	样品量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回 收率 /%	RSD /%
1	8.82	0.342	9.267	101.1	101.03	1.86
2	8.56	0.342	9.203	103.4		
3	9.03	0.512	9.454	99.1		
4	8.97	0.512	9.497	100.2		
5	8.66	0.683	9.274	99.3		
6	9.04	0.683	10.021	103.1		

2.4.10 样品含量测定 精密称定奥红胶囊内容物约 0.35 g,按“2.4.3”方法制备供试品溶液,按上述色谱条件测定峰面积,计算含量,3 批样品中奥美拉唑的含量分别为 24.04, 25.21, 25.82 mg·g⁻¹。

3 讨论

以奥美拉唑作为对照品,对胶囊内容物的甲醇溶液进行扫描,结果表明二者在 302 nm 处均有最大吸收峰。以克拉霉素作为对照品,对胶囊内容物的克拉霉素流动相溶液进行扫描,结果表明二者在 210 nm 处均有最大吸收峰,这样为研究和开发这一院内自制制剂奥红胶囊,控制其质量,找到了

检测方法。经液相色谱测定表明在 302 nm 处测得供试溶液对奥美拉唑干扰较少,且分离效果良好,故选用此波长作为检测奥美拉唑波长,选 210 nm 波长作为检测克拉霉素波长。试验中发现克拉霉素分别用流动相和甲醇配制所得的溶液,前者的 HPLC 谱要比后者稳定,所以试验中克拉霉素均用流动相进行配制。采用薄层色谱对奥红胶囊内容物进行定性鉴别,方法简便、可靠。实验结果显示,用 RP-HPLC 法对奥红胶囊内容物中奥美拉唑和克拉霉素进行定量分析,具有较好的准确度和灵敏度,实验的重复性高。本方法可用于奥红胶囊中克拉霉素和奥美拉唑的定性及定量研究,为奥红胶囊的质量控制建立了分析方法。

REFERENCES

[1] SHN J M, BESANCON M, SMON A, *et al*. The site of action of pantoprazole in the gastric H⁺/K⁺-ATPase [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1993, 1148 (2): 223-233.
[2] WANG G S, WU J B, ZHANG D Q. 25 cases of peptic ulcer in unsteady stage treated by omeprazole [J]. *Mod Med Health (现代医药卫生)*, 2005, 21 (10): 1233-1233.
[3] CHEN L N, WANG J J. Clinical observation of clotrimazole combined omeprazole in treating HP infection [J]. *Hebei Med (河北医学)*, 1999, 5 (2): 15-16.
[4] Ch. P (2005) Vo II (中国药典 2005 年版. 二部) [S]. 2005: Appendix (附录) IE; Appendix (附录) XA; 270-271.

收稿日期: 2007-11-27

HPLC同时测定心可舒片中 3种有效成分

廖正根,赵国巍,梁新丽,王光发 (现代中药制剂教育部重点实验室,江西中医学院,南昌 330004)

摘要:目的 建立同时测定心可舒片中 3 种有效成分——葛根素、丹参酮 IIA 和熊果酸含量的 HPLC 方法。方法 C₁₈ 色谱柱,梯度洗脱,流动相为乙腈-水 (含 0.3% 磷酸),流速为 1.0 mL·min⁻¹,柱温为 25℃,MWD 检测器。结果 葛根素、丹参酮 IIA 和熊果酸的线性范围分别为 52.6~262.8, 4.2~21.1 和 20.5~102.6 μg·mL⁻¹, r 值分别为 0.999 7, 0.999 9 和 0.999 7;平均加样回收率分别为 100.63%, 97.08% 和 96.92%, RSD 分别为 1.4%, 1.3% 和 1.4%。结论 该方法准确,操作简便,又可降低质量检验成本,可以用于心可舒片的质量控制。

关键词:葛根素;丹参酮 IIA;熊果酸;心可舒片;HPLC

中图分类号: R917.101; R927.2 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693 (2008) 06-0536-04

The Simultaneous Determination of Three Major Bioactive Components in Xinkeshu Tablets by HPLC

LIAO Zheng-gen, ZHAO Guo-wei, LIANG Xin-li, WANG Guang-fa (Key Laboratory of Modern Preparation of TCM, Ministry of Education, Jiang Xi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method for simultaneous determination of puerarin, tanshinone IIA and ursolic acid in Xinkeshu tablets as three major bioactive components. METHODS A C₁₈ column was used. The chromatography was carried

作者简介:廖正根,男,博士,副教授 Tel: (0791) 7119011 E-mail: lyzlyg@163.com

out with a stepwise gradient programming. The mobile phase was acetonitrile-water (containing 0.3% phosphorous) and the flow rate was $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. **RESULTS** The linear ranges of puerarin, tanshinone IIA and ursolic acid were $52.6 \sim 262.8 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $r = 0.9997$, $4.2 \sim 21.1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $r = 0.9999$ and $20.5 \sim 102.6 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $r = 0.9997$, respectively. The average recovery rates of puerarin, tanshinone IIA and ursolic acid were 100.63% with RSD 1.4%, 97.08% with RSD 1.3% and 96.92% with RSD 1.4%, respectively. **CONCLUSION** The method is successfully applied to analyze three major bioactive components in Xinkeshu tablets. This method is simple, accurate and effective for the quality control of Xinkeshu tablets.

KEY WORDS: puerarin; tanshinone IIA; ursolic acid; Xinkeshu tablets; HPLC

心可舒片收载于部颁标准第十五册,处方为山楂 375 g, 丹参 375 g, 葛根 375 g, 三七 25 g, 木香 25 g, 具有活血化瘀、行气止痛的功能,用于气滞血瘀型冠心病引起的胸闷、心绞痛、高血压、头晕、颈项疼痛及心律失常、高血脂等症^[1]。其中葛根素^[2]、丹参酮 IIA^[3]和熊果酸^[4]均为其中的有效成分。但未见采用 HPLC 测定心可舒片中熊果酸的含量,及同时测定葛根素、丹参酮 IIA 和熊果酸 3 种有效成分含量方法的报道。为降低工作量,减少检验成本,且能全面有效地控制产品质量,笔者采用 HPLC 法同时对心可舒片中的有效成分葛根素、丹参酮 IIA 和熊果酸进行了含量测定。

1 仪器与试药

Agilent 1200 全自动液相色谱仪。心可舒片为市场购得;葛根素、丹参酮 IIA 和熊果酸对照品均购自中国药品生物制品检定所,供含量测定用;水为重蒸水,乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Agilent ZOBAX SB-C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)。流动相:乙腈-水 (含 0.3% 磷酸),洗脱条件为:0~12 min,乙腈-水 (12:88); 12~23 min,乙腈由 12% 线性增加到 84%; 23~23.1 min,乙腈由 84%

线性递减到 67%; 23.1~35 min,乙腈-水 (67:33)。流速为 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,柱温为 25°C ,检测波长 250 nm (0~12 min), 270 nm (12~23 min), 210 nm (23~35 min)。

2.2 对照品储备溶液的制备

精密称取丹参酮 IIA 对照品 4.22 mg 置于 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,混匀。精密称取葛根素对照品 13.14 mg 和熊果酸对照品 5.13 mg 置于 50 mL 量瓶中,加入丹参酮 IIA 对照品溶液 2.5 mL,再加甲醇溶解并稀释至刻度,混匀即得混合对照品储备液 (葛根素 $262.8 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、丹参酮 IIA $21.1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和熊果酸 $102.6 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)。

2.3 供试品溶液的制备

取本品 10 片除去包衣,研细,精密称取细粉 0.1 g 置 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,超声处理 30 min,放至室温,补甲醇至原刻度,过滤,作为供试品溶液。取空白片粉 (取除葛根外其他成分按处方量混合) 按供试品溶液制备方法制备葛根的阴性供试品溶液。同法分别制备丹参和山楂的阴性供试品溶液。

2.4 系统适用性试验

在上述色谱条件下,葛根素、丹参酮 IIA 和熊果酸的理论塔板数分别大于 6000, 7000 和 3000,葛根素、丹参酮 IIA 和熊果酸与其相邻峰基线分离。阴性供试品溶液对测定无干扰,见图 1。

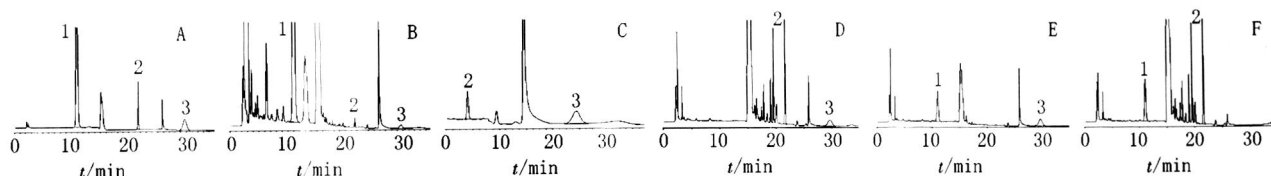


图 1 高效液相色谱图

A - 对照品溶液; B - 供试品溶液; C - 2, 3 峰放大图; D - 葛根阴性供试品溶液; E - 丹参阴性供试品溶液; F - 山楂阴性供试品溶液; 1 - 葛根素; 2 - 丹参酮 IIA; 3 - 熊果酸

Fig 1 HPLC chromatograms

A - control solution; B - sample solution; C - enlarged chromatogram of 2 and 3 peaks; D - Gegen negative sample solution; E - salvia negative sample solution; F - hawthorn negative sample solution; 1 - puerarin; 2 - tanshinone IIA; 3 - ursolic acid

2.5 线性关系考察

分别精密吸取混合对照品储备液 (葛根素 $262.8 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、丹参酮 IIA $21.1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和熊果酸 $102.6 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 0.2, 0.4, 0.5, 0.6, 0.8 mL 置于 1 mL 量瓶中,加甲醇配成系列含量的混合对照品溶液。精密吸取上述各混合对照品溶液 10 μL,在上述色谱条件下测定,并以峰面积 Y 为纵坐标,浓度 X (n=3) 为横坐标进行线性回归,得葛根素的回归方程为 $Y = 39.21X + 14.644$, $r = 0.9997$,在 $52.6 \sim 262.8 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内呈良好的线性关系;丹参酮 IIA 的回归

方程为 $Y = 3.1883X + 1.0602$, $r = 0.9999$,在 $4.2 \sim 21.1 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内呈良好的线性关系;熊果酸的回归方程为 $Y = 16.247X + 3.3757$, $r = 0.9997$,在 $20.5 \sim 102.6 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内呈良好的线性关系。

2.6 重复进样精密度试验

精密吸取上述对照品溶液 10 μL,重复进样 6 次,测定色谱峰面积,计算葛根素、丹参酮 IIA 和熊果酸的 RSD 分别为 1.3%, 1.7% 和 1.4%。结果表明重复进样精密度良好。

2.7 重复性试验

取上述供试品,分别精密称取 6 份,每份 0.1 g,按供试品溶液制备方法制备供试品溶液,测定含量,按照回归方程计算葛根素、丹参酮 IIA 和熊果酸的色谱峰面积。结果葛根素、丹参酮 IIA 和熊果酸的含量平均值分别为 21.586,0.201 和 1.593 mg · g⁻¹,RSD 分别为 1.6%,1.8%和 1.5%。

2.8 稳定性试验

精密吸取供试品溶液 10 μL,按 0,2,4,6,8 h 时间间隔,分别进样分析,测定葛根素、丹参酮 IIA 和熊果酸的色谱峰

表 1 葛根素、丹参酮 IIA 和熊果酸加样回收率实验

Tab 1 Recovery of puerarin, tanshinone IIA and ursolic acid

测定成分	取样量 /g	理论值 /mg	加入量 /mg	实测量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
葛根素	0.051 2	1.105 4	1.314 0	2.436 8	100.72	100.63	1.4
	0.050 1	1.081 6		2.377 3	99.24		
	0.052 6	1.135 6		2.505 9	102.30		
	0.050 8	1.096 8		2.380 9	98.76		
	0.051 7	1.116 2		2.475 2	101.85		
	0.053 1	1.146 4		2.487 2	101.09		
丹参酮 IIA	0.051 2	0.009 8	0.105 5	0.113 3	98.26	97.08	1.3
	0.050 1	0.009 6		0.112 2	97.48		
	0.052 6	0.010 1		0.113 5	98.18		
	0.050 8	0.009 7		0.109 6	95.14		
	0.051 7	0.009 9		0.110 4	95.67		
	0.053 1	0.010 2		0.113 1	97.75		
熊果酸	0.051 2	0.081 1	0.513 0	0.565 7	95.22	96.92	1.4
	0.050 1	0.079 4		0.570 9	96.37		
	0.052 6	0.083 3		0.587 9	98.59		
	0.050 8	0.080 5		0.582 6	98.16		
	0.051 7	0.081 9		0.581 7	97.78		
	0.053 1	0.084 1		0.569 7	95.41		

2.10 样品含量测定

取 3 个批号的心可舒片内容物,每批各 3 份,每份约 0.1 g,按供试品溶液制备方法及色谱条件进行测定,根据回归方程计算含量,结果见表 2。

表 2 样品中熊果酸、丹参酮 IIA 和葛根素含量测定结果 (n = 3)

Tab 2 Detemination of ursolic acid, tanshinone IIA and puerarin in samples(n = 3)

批号	葛根素 /mg · g ⁻¹	RSD /%	丹参酮 IIA /mg · g ⁻¹	RSD /%	熊果酸 /mg · g ⁻¹	RSD /%
050441	21.642	1.1	0.199	1.6	1.615	1.2
060433	21.586	1.6	0.201	1.8	1.593	1.5
060434	21.590	1.7	0.192	1.9	1.584	1.4

3 讨论

3.1 建立了 HPLC 同时测定心可舒片中的有效成分葛根素、丹参酮 IIA 和熊果酸的含量,该方法精密度高,重复性好,适宜心可舒片中 3 个有效成分的同时测定。采用同一供试品制备方法,同时测定多个有效成分,可以降低质量检验成本。

3.2 原部颁标准仅对心可舒片中山楂的有效成分熊果酸进行了鉴别,刘冰等^[5]采用 HPLC 对葛根素和丹参酮 IIA 进行

面积,三者的 RSD 分别为 1.4%,1.9%和 1.2%。

2.9 加样回收率试验

称取已知含量的供试品 6 份,每份 0.5 g,置 10 mL 量瓶中,分别精密加入混合对照品溶液 5 mL,按照供试品溶液制备方法制备并测定。本方法葛根素的加样回收率在 98.76%~101.85%之间,RSD 为 1.4%;丹参酮 IIA 的加样回收率在 95.14%~98.26%之间,RSD 为 1.3%;熊果酸的加样回收率在 95.22%~98.59%之间,RSD 为 1.4%,见表 1。

了含量测定,但没有检测山楂的质量控制项。本试验建立了 3 个有效成分同时进行含量测定的方法,有利于更为全面地控制心可舒片的质量,也可为建立其它多成分制剂的含量测定方法提供参考。

3.3 张冬梅等^[6]采用 HPLC 同时测定心可舒片中葛根素和丹参酮 IIA 的含量时,葛根素在 4 min 左右出峰。本实验发现,葛根素的出峰时间过早会使供试品溶液的含量测定受到杂质峰的干扰,因此采用梯度洗脱,延长葛根素出峰时间至 11 min 左右。

对乙腈-水和乙腈-水(含 0.3%磷酸)进行了比较,结果发现在流动相中加入 0.3%磷酸,得到色谱图的峰形较好。

REFERENCES

[1] Standard by People's Republic of China medical department, Chinese traditional medicine 15th fascicle (中华人民共和国卫生部部颁标准, 中药第十五分册) [S]. 2000: 90.

[2] YN H, YUAN Q, DONG X Y, *et al* RP-HPLC detemination of puerarin in Xinkeshu tablet [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol (中药新药与临床药理), 2006, 17(6): 455-457.

[3] WU G, HE Z B, WU H B. The researching advancement of phamacology of tanshinone [J]. Mod J Integr Tradit Chin West Med (现代中西医结合杂志), 2005, 14(10): 1382-1385.

- [4] L I G H, S U N J Y, Z H A N G X L, *et al* Experimental studies on antihyperlipidemia effects of two compositions from hawthorn in mice [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2002, 33(1): 50-52
- [5] L U B, X U Y B, W A N G R H. Simultaneous determination of puerarin and tanshinone IIA in Xinkeshu Capsule by HPLC [J].

Chin Tradit PatMed(中成药), 2006, 28(5): 669-671.

- [6] Z H A N G D M, L U B, S A N Y. Simultaneous determination of the contents of puerarin and tanshinone IIA in Xinkeshu tablets by HPLC [J]. China Pharm(中国药业), 2005, 14(7): 41-42

收稿日期: 2007-11-27

HPLC测定合欢花中槲皮苷的含量

俞建平¹, 马临科¹, 郑建宝² (1 浙江省药品检验所, 杭州 310004; 2 浙江中医药大学中药饮片厂, 杭州 310009)

摘要:目的 测定合欢花中槲皮苷的含量。方法 采用高效液相色谱法, Agilent-C₁₈柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液 (25:75), 检测波长为 256 nm, 流速为 1.0 mL · min⁻¹。结果 槲皮苷进样量在 0.120 4 ~ 2.408 μg 内呈良好的线性关系, 平均回收率为 99.2%, RSD = 1.3% (n=6)。结论 该方法快速简便, 稳定可靠, 专属性强。

关键词: 高效液相色谱法; 合欢花; 槲皮苷; 含量测定

中图分类号: R917.101; R927.2

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2008)06-0539-02

Determination of Quercitrin in Albizzia julibrissin by HPLC

YU Jian-ping, MA Lin-ke, ZHENG Jian-bao (1. Zhejiang Institute For Drug Control, Hangzhou 310004, China; 2. TCM for Decoction Factory of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310009, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To determine the content of quercitrin in *Albizzia julibrissin* Durazz with HPLC. **METHODS** An Agilent-C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used. The mobile phase was acetonitrile-0.1% phosphoric acid (25:75), and detective wavelength was set at 256 nm, and the flow rate was 1.0 mL · min⁻¹. **RESULTS** A good linearity was observed for quercitrin in the range of 0.120 4 - 2.408 μg. The average recovery of quercitrin was 99.2% and RSD was 1.3% (n=6).

CONCLUSION The method is convenient, stable, reliable and special for the determination of quercitrin in *Albizzia julibrissin* Durazz.

KEY WORDS: HPLC; *Albizzia julibrissin* Durazz; quercitrin; determination of content

合欢花为豆科植物合欢 *Albizzia julibrissin* Durazz 的干燥花序。合欢花性味甘, 平。有解郁安神的作用。具文献报道^[1], 合欢花总黄酮含量较高, 其所含黄酮类成分主要为槲皮苷, 而关于合欢花中黄酮类成分的分析很少报道, 为此, 笔者建立合欢花中槲皮苷的高效液相色谱含量测定方法。

1 仪器与试药

惠普 HP1100 系列液相色谱仪 (自动进样分析), UV-260 紫外分光光度计 (日本岛津)。槲皮苷对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号为 111538-200403, 含量测定用)。乙腈 (Merck, 色谱纯), 水 (重蒸水), 其他试剂均为分析纯。合欢花药材为笔者收集 7 批市场流通商品。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Agilent C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液 (25:75); 检测波长为 256 nm; 流速为 1.0 mL · min⁻¹; 柱温 25 °C; 样品进样量为 10 μL。理论板数

按槲皮苷峰计应不低于 3 000。对照品、样品色谱图见图 1。

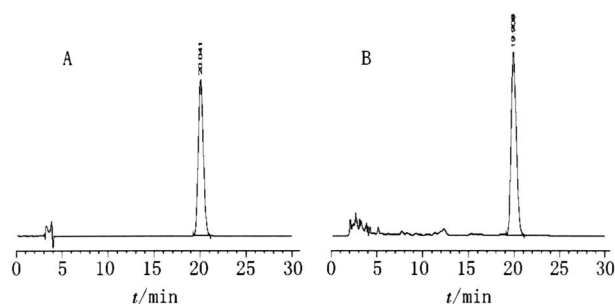


图 1 对照品和样品色谱图

A - 对照品; B - 样品

Fig 1 HPLC chromatograms of reference and sample

A - reference substance; B - sample

2.2 检测波长的选择

取每 1 mL 含槲皮苷 30.1 μg 的对照品溶液, 在 200 ~ 400 nm 处扫描, 槲皮苷在 256.1 nm 波长处有最大吸收, 故选

作者简介: 俞建平, 男, 副主任药师 Tel: (0571) 86459414

E-mail: pjyp@126.com