

HPLC 法同时测定肠安颗粒中的 3 种成分

周文娟^{1,2}, 詹常森^{1,2*}, 黄昕明^{1,2}

(1. 上海和黄药业有限公司, 上海 200331; 2. 上海中药固体制剂创新工程技术研究中心, 上海 200331)

摘要: **目的** 建立 HPLC 法同时测定肠安颗粒(白芍、甘草、五味子等)中芍药苷、甘草苷、五味子醇甲的含有量。**方法** 分析采用 Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×25 mm, 5 μm); 流动相为水-乙腈, 梯度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 20 ℃; 检测波长 230 nm。**结果** 芍药苷、甘草苷和五味子醇甲分别在 0.162 5~0.542 0 μg ($r=0.999\ 9$)、0.034 5~0.115 0 μg ($r=0.999\ 6$)、0.013 0~0.043 0 μg ($r=0.999\ 7$) 范围内线性关系良好, 平均回收率分别为 102.03%、101.92%、101.98%, RSD 均小于 3%。**结论** 该方法准确、稳定, 可用于肠安颗粒的质量评价。**关键词:** 肠安颗粒; 芍药苷; 甘草苷; 五味子醇甲; HPLC
中图分类号: R927.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2016)05-1048-04
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.05.017

Simultaneous determination of three constituents in Changan Granules by HPLC

ZHOU Wen-juan^{1,2}, ZHAN Chang-sen^{1,2*}, HUANG Xin-ming^{1,2}
(1. Shanghai Hutchison Pharmaceuticals Co., Ltd., Shanghai 200331, China; 2. Shanghai Engineering Research Center for Innovation of Solid Preparation of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200331, China)

ABSTRACT: **AIM** To establish an HPLC method for the simultaneous determination of contents of paeoniflorin, liquiritin and schizandrin in Changan Granules (*Paeonia lactiflora*, *Glycyrrhiza uralensis*, *Schisandra chinensis*, etc.). **METHODS** The analysis was performed on Kromasil C₁₈ column (4.6 mm×25 mm, 5 μm) column with its temperature maintained at 20 ℃, mobile phase was water-acetonitrile with gradient elution at a flow rate of 1.0 mL/min, and detection wavelength was set at 230 nm. **RESULTS** Paeoniflorin, liquiritin and schizandrin showed good linear relationships within the ranges of 0.162 5–0.542 0 μg ($r=0.999\ 9$), 0.034 5–0.115 0 μg ($r=0.999\ 6$) and 0.013 0–0.043 0 μg ($r=0.999\ 7$), whose average recoveries were 102.03%, 101.92% and 101.98%, respectively. The RSDs were all less than 3%. **CONCLUSION** This accurate and stable method can help to manage the quality of Changan Granules.
KEY WORDS: Changan Granules; paeoniflorin; liquiritin; schizandrin; HPLC

肠安颗粒为上海中医药大学附属曙光医院的经验方, 临床应用多年, 已获新药临床批件(批件号 2009L01147), 由白芍、甘草、五味子、白术、山药、柴胡、延胡索、儿茶 8 味中药组成, 具有健脾益气, 调肝止泻之功效。现代研究表明, 肠安颗粒可增强体液免疫, 对脾虚有一定的治疗作用^[1], 还可改善肠易激综合征大鼠的体重与结肠炎^[2]。其中, 白芍为臣药, 可调肝柔肝止痛^[3], 所含芍药苷有补血^[4]、镇痛解痉^[5-6]的作

用; 五味子为佐药, 可涩肠止泻^[7]; 甘草益气补中^[8], 而炙甘草更具有“通经脉, 利血气”之功效^[9], 作为使药配白术补脾之气。为了更好控制肠安颗粒的质量, 本实验采用 HPLC 法同时测定芍药苷、甘草苷及五味子醇甲的含有量, 并进行了系统的方法学考察, 可为完善该制剂的质量标准提供参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器 Agilent 1100 高效液相色谱仪, 包括

收稿日期: 2015-10-28
作者简介: 周文娟(1983—), 女, 硕士, 工程师, 从事新药研发工作。E-mail: wenjuanz@shpl.com.cn
*通信作者: 詹常森(1968—), 男, 博士, 从事中药活性成分与质量标准研究。E-mail: zhanchangsen@shpl.com.cn

G1313A 检测器（美国安捷伦公司）；Kromasil C₁₈ 色谱柱（4.6 mm×25 mm，5 μm）；AL204 电子分析天平（瑞士梅特勒-托利多公司）；Thermo Scientific 移液枪（10~100、100~1 000 μL）。

1.2 试药 芍药苷（批号 110736-201136）、甘草苷（批号 111610-200604）和五味子醇甲（批号 110857-201010）对照品（中国食品药品检定研究院）。乙腈为色谱纯（美国天地公司）；乙醇为分析纯（上海展云化工有限公司）；水为去离子水（Millipore 系统制备）。肠安颗粒（批号 120426、120507 和 130501）均产自上海和黄药业有限公司。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性试验 Kromasil C₁₈ 色谱柱（4.6 mm×25 mm，5 μm）；流动相 A 为水溶液，B 为乙腈溶液，梯度洗脱（程序见表 1）；体积流量 1.0 mL/min；柱温 20 ℃；检测波长 230 nm；进样量 10 μL；对照品进样量 5 μL。在该色谱条件下，3 种成分均达到基线分离，其它成分无干扰，见图 1。

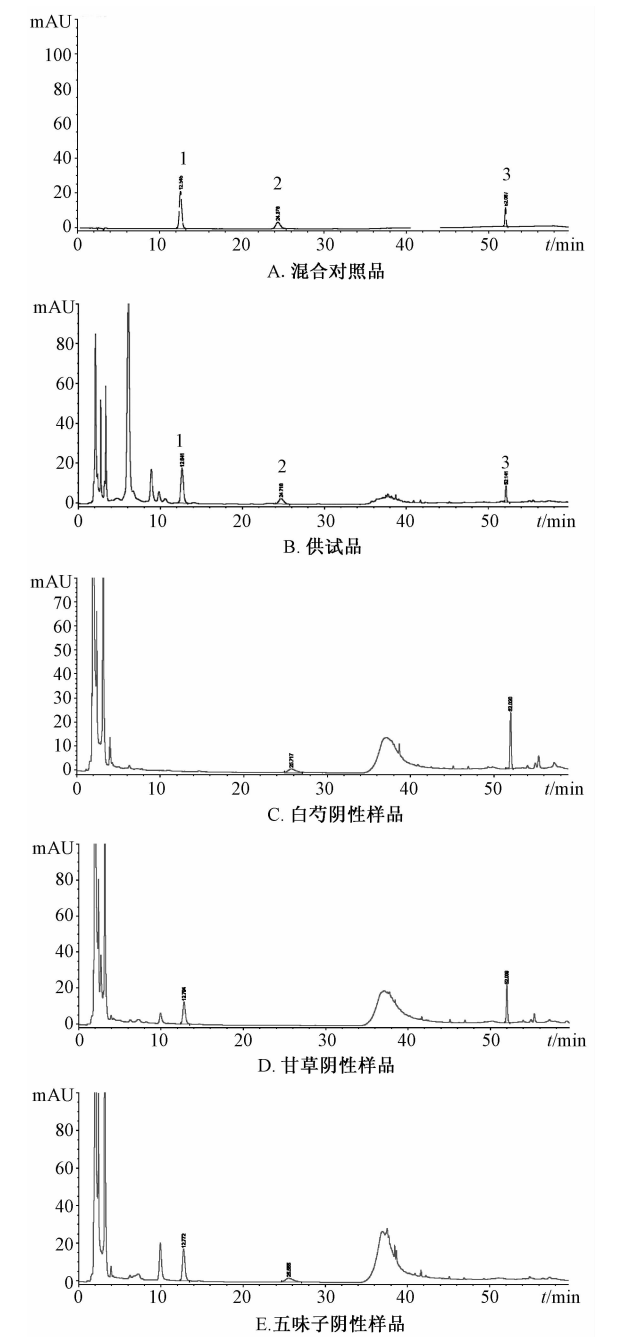
表 1 梯度洗脱程序

Tab. 1 Gradient elution programs		
时间/min	A 水/%	B 乙腈/%
0~30	15	85
30~35	15~35	85~65
35~55	35~60	65~40
55~60	60~15	40~85

2.2 混合对照品溶液的制备 分别精密称取芍药苷、甘草苷、五味子醇甲对照品适量，加 50% 乙醇溶液制成每 1 mL 含芍药苷 1.083 8 mg、甘草苷 0.229 8 mg 及五味子醇甲 0.086 4 mg 的贮备液。再分别吸取 5 mL，置于 50 mL 量瓶中，50% 乙醇定容至刻度，制成每 1 mL 含芍药苷 0.108 4 mg、甘草苷 0.023 0 mg 及五味子醇甲 0.008 6mg 的混合对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 精密称取样品 0.15 g，置于 25 mL 棕色量瓶中，加 50% 乙醇适量，超声 30 min，取出，放冷，50% 乙醇定容至刻度，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2.4 线性关系考察 精密吸取“2.2”项下混合对照品溶液 3、4、6、8、9 和 10 mL，置于 10 mL 量瓶中，50% 乙醇定容至刻度，摇匀，即得不同质量浓度的溶液，在“2.1”项色谱条件下测定。以对照品峰面积为纵坐标（Y），进样量为横坐标（X）进行线性回归，结果见表 2。



1. 芍药苷 2. 甘草苷 3. 五味子醇甲
1. paeoniflorin 2. liquiritin 3. schizandrin

图 1 HPLC 色谱图
Fig. 1 HPLC chromatograms

表 2 回归方程和相关系数

Tab. 2 Regression equations and correlation coefficients			
成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/μg
芍药苷	$Y = 1\,420.1X + 1.618\,0$	0.999 9	0.162 5~0.542 0
甘草苷	$Y = 2\,206.3X - 2.245\,0$	0.999 6	0.034 5~0.115 0
五味子醇甲	$Y = 4\,445X - 0.984\,3$	0.999 7	0.013 0~0.043 0

2.5 精密度试验 精密吸取同一混合对照品溶

1049

液，在“2.1”项色谱条件下连续进样 6 次，测得芍药苷、甘草苷、五味子醇甲峰面积 RSD 分别为 0.53%、0.45%、0.39%，表明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验 精密称取同一批（批号 130501）样品 0.15 g，共 6 份，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下测定，测得芍药苷、甘草苷、五味子醇甲平均含有量 RSD 分别为 2.07%、2.49%、2.24%，表明该方法重复性良好。

2.7 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下分别于 0、4、8、12、16、24 h 进样测定，测得芍药苷、甘草苷、五味子醇甲平均含有量 RSD 分别为 0.41%、1.68%、0.33%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.8 加样回收率试验 精密称取同一批（批号 130501）含有量已知的肠安颗粒 6 份，每份 70 mg，置于 25 mL 棕色量瓶中，加入含芍药苷 0.325 0 mg、甘草苷 0.061 8 mg 及五味子醇甲 0.024 9 mg 的混合对照品溶液 1 mL，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下计算回收率，结果见表 3~5。

表 3 芍药苷加样回收率试验结果

Tab. 3 Results of recovery tests for paeoniflorin						
称样量/ g	原有量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回收 率/%	RSD/ %
0.071 8	0.347 5	0.325 0	0.678 8	101.92	102.03	0.48
0.072 1	0.349 0	0.325 0	0.681 0	102.18		
0.070 1	0.339 3	0.325 0	0.673 4	102.80		
0.072 2	0.349 4	0.325 0	0.680 8	101.95		
0.070 2	0.339 8	0.325 0	0.668 9	101.27		
0.072 9	0.352 8	0.325 0	0.684 6	102.07		

表 4 甘草苷加样回收率试验结果

Tab. 4 Results of recovery tests for liquiritin						
称样量/ g	原有量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回收 率/%	RSD/ %
0.071 8	0.059 3	0.061 8	0.123 1	103.18	101.92	1.36
0.072 1	0.059 6	0.061 8	0.122 2	101.36		
0.070 1	0.057 9	0.061 8	0.121 2	102.42		
0.072 2	0.059 6	0.061 8	0.121 9	100.75		
0.070 2	0.058 0	0.061 8	0.119 9	100.21		
0.072 9	0.060 2	0.061 8	0.124 2	103.60		

2.9 样品含有量测定 取肠安颗粒 3 批，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下测定，结果见表 6。

表 5 五味子醇甲加样回收率试验结果

Tab. 5 Results of recovery tests for schizandrin						
称样量/ g	原有量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回收 率/%	RSD/ %
0.071 8	0.022 2	0.024 9	0.046 5	97.69	101.98	2.30
0.072 1	0.022 2	0.024 9	0.047 4	101.04		
0.070 1	0.021 6	0.024 9	0.047 3	102.94		
0.072 2	0.022 3	0.024 9	0.048 0	103.13		
0.070 2	0.021 7	0.024 9	0.047 4	103.28		
0.072 9	0.022 5	0.024 9	0.048 4	103.78		

表 6 含有量测定结果 (n=3)

Tab. 6 Results of content determination (n=3)			
批号	芍药苷/(mg·g ⁻¹)	甘草苷/(mg·g ⁻¹)	五味子醇甲/(mg·g ⁻¹)
120426	4.668	0.833	0.312
120507	4.726	0.817	0.301
130501	4.840	0.847	0.309

3 讨论

3.1 提取溶剂的选择 参照文献 [10]，甘草苷用 70% 乙醇溶解，而芍药苷与五味子醇甲均用甲醇溶解。然后，对提取溶剂进行考察，发现甲醇、50% 乙醇和 70% 乙醇之间没有明显差异，考虑成本问题，最终确定提取溶剂为 50% 乙醇。

3.2 检测波长的确定 芍药苷的最大吸收波长在 230 nm 附近，而甘草苷及五味子醇甲的最大吸收波长在 250 nm 附近，并且在 230 nm 处也有吸收，但芍药苷无吸收。参照文献 [11-14]，由于在 230 nm 波长处排除了其他成分的干扰，故最终确定检测波长为 230 nm。

3.3 流动相的优化 根据芍药苷与甘草苷极性较大，而五味子醇甲极性相对较小的特性，选择流动相梯度洗脱来进行分离。参照文献 [15]，发现在“2.1”项色谱条件下，3 种成分的峰形均较好，保留时间较合适，而且与其他的相邻峰能完全分离，故最终确定为流动相条件。

3.4 柱温的考察 在柱温为 20、30、35 ℃ 时进行样品分析，比较其对被测成分分离度、峰形和保留时间的影响。结果，在 20 ℃ 下，3 种成分的分离度、峰形均较好，而且保留时间较合适，故最终确定柱温为 20 ℃。

3.5 含有量的测定 本实验采用所建立的方法，对 3 个不同批次肠安颗粒中芍药苷、甘草苷及五味子醇甲的含有量进行测定，发现各批次差异不明显，表明该工艺比较稳定。

参考文献：

[1] 杨海燕，张黎莉，袁秀荣. 肠安颗粒对脾虚模型小鼠及其

免疫功能的影响[J] . 中国实验方剂学杂志, 2008, 14 (1): 43-45.

[2] 袁秀荣, 谢 燕, 李国文. 肠安颗粒治疗肠易激综合症的药效学研究[J] . 中国新药与临床杂志, 2008, 27(3): 180-183.

[3] 李熙贵. 白芍治疗肾绞痛效果好[J] . 四川中医, 2000, 18(2): 17.

[4] 郭 平, 王继峰, 王升启. 芍药苷对放射线致血虚证小鼠骨髓 Epo 和 G-CSF 基因表达的影响[J] . 山东中医药大学学报, 2005, 29(3): 236-239.

[5] Tsai H Y, Lin Y T, Tsai C H, *et al.* Effects of paeoniflorin on the formalin-induced nociceptive behaviour in mice[J] . *J Ethnopharmacol*, 2001, 75(2-3): 267-271.

[6] Yu H Y, Mu D G, Chen J, *et al.* Suppressive effects of intrathecal paeoniflorin on bee venom-induced pain-related behaviors and spinal neuronal activation [J] . *Pharmacology*, 2011, 88(3-4): 159-166.

[7] 方雅靖. 五味子临床功效探究[J] . 中国民族民间医药, 2014(21): 78.

[8] 高静芳. 浅谈甘草的功效与现代药理研究[J] . 中国中医

药现代远程教育, 2011, 9(18): 63-64.

[9] 中国中医研究院. 岳美中医案集[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1978: 65-66.

[10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2010 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 61, 80, 97.

[11] 李 松, 王 蓓, 浦香兰. HPLC-DAD 法测定银屑优化颗粒中芍药苷、甘草苷、落新妇苷、迷迭香酸和甘草酸[J]. 现代药物与临床, 2014, 29(4): 373-376.

[12] 彭永芳, 潘 莹, 魏娜娜. HPLC 法测定果脯佛手中甘草苷和甘草酸的含量[J] . 昆明师范高等专科学校学报, 2006, 28(4): 8-10.

[13] 张崇禧, 杨春华, 蔡恩博. HPLC 分析甘草中甘草酸和甘草苷含量[J] . 资源开发与市场, 2010, 26(8): 673-675.

[14] 李 慧, 孙艳杰, 王路宏. 高效液相色谱法测定人参五味子颗粒中五味子醇甲的含量[J] . 中国药品标准, 2009, 10(1): 57-59.

[15] 宣东平, 窦志华, 尤幅仪. 高效液相色谱法测定五味子浸膏中五味子醇甲与五味子乙素的含量[J] . 时珍国医国药, 2008, 19(3): 555-556.

参芪养心丸质量标准的研究

来泽渲¹, 胡 北², 马宏达², 史国兵^{2*}

(1. 辽宁医学院沈阳军区总医院研究生培养基地, 辽宁 锦州 121000; 2. 沈阳军区总医院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要: **目的** 建立参芪养心丸(黄芪、丹参、苦参等)的质量标准。**方法** TLC 法定性鉴别黄芪、丹参和苦参, 高效液相色谱-蒸发光散射检测器(HPLC-ELSD)法测定黄芪甲苷的含有量, 高效液相色谱-紫外检测器(HPLC-UV)法同时测定苦参碱和氧化苦参碱的含有量。**结果** 黄芪、丹参、苦参的分离度良好, 斑点清晰。黄芪甲苷在 0.995 0 ~ 31.84 μg 范围内线性关系良好 ($r = 0.999\ 5$), 平均回收率为 99.4%, RSD 为 1.5% ($n = 6$)。苦参碱和氧化苦参碱的线性范围分别为 0.001 250 ~ 0.036 00 mg/mL ($r = 0.999\ 7$) 和 0.000 898 4 ~ 0.028 75 mg/mL ($r = 0.999\ 6$), 平均回收率分别为 98.2% (RSD = 1.6%) 和 98.4% (RSD = 1.7%)。**结论** 该标准能有效控制参芪养心丸的质量。

关键词: 参芪养心丸; 黄芪; 丹参; 苦参; 黄芪甲苷; 苦参碱; 氧化苦参碱

中图分类号: R927.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2016)05-1051-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.05.018

Quality standard for Shenqiyangxin Pills

LAI Ze-xuan¹, HU Bei², MA Hong-da², SHI Guo-bing^{2*}

(1. Postgraduate Training Base, General Hospital of Shenyang Military Region, Liaoning Medical University, Jinzhou 121000, China; 2. General Hospital of Shenyang Military Region, Shenyang 110016, China)

收稿日期: 2015-08-17

基金项目: 军队医疗机构制剂标准提高科研专项重点课题 (13ZJZ02)

作者简介: 来泽渲 (1989—), 女, 硕士生, 从事中药质量标准研究。Tel: 13386838780, E-mail: lxalk@163.com

*** 通信作者:** 史国兵 (1966—), 男, 博士, 主任药师, 博士生导师, 从事临床药学研究。E-mail: sysgb@126.com