

HPLC法测定消核糖浆中芍药苷的含量

周儒兵^{1*}, 杨帆^{2,3}, 董晓蓉^{2,3#} (1.重庆市肿瘤研究所, 重庆 400030; 2.重庆市食品药品检验所, 重庆 401121; 3.重庆市药物过程与质量控制工程技术研究中心, 重庆 401121)

中图分类号 R927.2; R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)18-2569-02

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.18.43

摘要 目的: 建立测定消核糖浆中芍药苷含量的方法。方法: 采用高效液相色谱法。色谱柱为 Waters SunFire C₁₈, 流动相为乙腈-0.1% 磷酸溶液 (12:88, V/V), 流速为 1.2 ml/min, 检测波长为 230 nm, 柱温为 30 ℃, 进样量为 10 μl。结果: 芍药苷进样量在 0.061 0~1.220 8 μg 范围内与其峰面积呈良好的线性关系 ($r=0.999\ 9$); 精密度、稳定性、重复性试验的 RSD < 2%; 平均加样回收率为 98.77% (RSD=1.09%, $n=6$)。结论: 该方法简便、快速, 结果准确, 可作为消核糖浆中芍药苷的含量测定方法。

关键词 消核糖浆; 芍药苷; 高效液相色谱法; 含量测定

Content Determination of Paeoniflorin in Xiaohe Syrup by HPLC

ZHOU Ru-bing¹, YANG Fan^{2,3}, DONG Xiao-rong^{2,3} (1.Chongqing Cancer Institute, Chongqing 400030, China; 2. Chongqing Institute for Food and Drug Control, Chongqing 401121, China; 3.Chongqing Engineering Center for Pharmaceutical Process and Quality Control, Chongqing 401121, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for determining the content of paeoniflorin in Xiaohe syrup. METHODS: HPLC method was adopted. The Waters SunFire C₁₈ column was used with the mobile phase of acetonitrile-0.1% phosphoric acid (12:88, V/V) at the flow rate of 1.2 ml/min; the detection wavelength was 230 nm with column temperature at 30 ℃. Sample size was 10 μl. RESULTS: There was a good linear relationship between the amount of paeoniflorin and peak area in the range of 0.061 0-1.220 8 μg ($r=0.999\ 9$). The RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all less than 2% and the average recovery was 98.77% (RSD=1.09%, $n=6$). CONCLUSIONS: The method is simple, rapid and accurate and can be used for the content determination of paeoniflorin in Xiaohe Syrup.

KEYWORDS Xiaohe syrup; Paeoniflorin; HPLC; Content determination

消核糖浆是由白芍、夏枯草、丹参等 12 味药经提取制成, 具有活血疏肝、散结止痛的功效, 用于乳房疼痛、乳腺增生等乳腺疾病的治疗。消核糖浆收载于《重庆市医疗机构制剂规范》(2008 年版), 无含量测定项, 质量控制不完善。笔者参考文献资料^[1-6], 经试验考察, 建立了以高效液相色谱 (HPLC) 法测定消核糖浆中白芍的活性成分芍药苷含量的方法, 为提高其质量控制标准提供参考。

1 材料

1.1 仪器

1100 型 HPLC 仪, 含可变波长检测器、ChemStation 色谱工作站 (美国 Agilent 公司); BP211S 型电子天平 (北京赛多利斯仪器系统有限公司); Simplicity-185 型超纯水机 (美国 Millipore 公司)。

1.2 药品与试剂

消核糖浆 (重庆市肿瘤研究所自制, 批号: 131024、

131212、140220, 规格: 250 ml/瓶); 芍药苷对照品 (中国食品药品检定研究院, 批号: 110736-201035, 纯度: 96.5%); 乙腈 (色谱纯, 美国 Fisher 公司); 甲醇 [分析纯, 重庆川东化工 (集团) 有限公司]; 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Waters SunFire C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1% 磷酸溶液 (12:88, V/V); 流速: 1.2 ml/min; 检测波长: 230 nm; 柱温: 30 ℃; 进样量: 10 μl。在此色谱条件下, 供试品中芍药苷色谱峰分离良好, 详见图 1。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取芍药苷对照品 0.012 65 g, 置于 100 ml 量瓶中, 加 50% 甲醇溶解并定容, 作为对照品贮备液; 精密量取对照品贮备液 5 ml, 置于 10 ml 量瓶中, 加 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。

[6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 二部[S]. 2010 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 391.

[7] 马力, 程斌, 岑丽. 高效液相色谱法测定复方阿昔洛韦乳

膏中阿昔洛韦和甲硝唑的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2005, 25(7): 636.

[8] 谢爱丽, 王维. 高效液相色谱法测定阿昔洛韦乳膏 (II) 中阿昔洛韦的含量[J]. 海峡药学, 2013, 25(4): 41.

(收稿日期: 2014-10-14 修回日期: 2015-03-18)

(编辑: 陈宏)

* 主管药师。研究方向: 药品质量控制。电话: 023-65359279

通信作者: 高级工程师。研究方向: 药品质量检测与质量控制。

电话: 023-86072723。E-mail: 406601823@qq.com

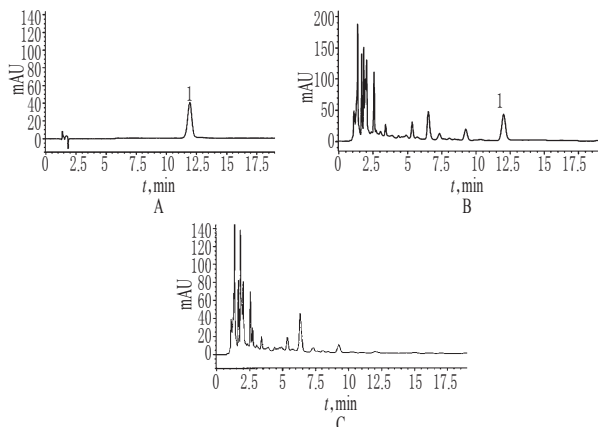


图1 高效液相色谱图

A.对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.芍药苷

Fig 1 HPLC chromatograms

A.reference;B.test sample;C.negative control;1.paeoniflorin

2.2.2 供试品溶液 精密量取消核糖浆样品1 ml,置于10 ml量瓶中,加50%甲醇至刻度,摇匀,静置1 h,取上清液用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.2.3 阴性对照溶液 按处方比例制备缺白芍的阴性样品,精密量取1 ml,按“2.2.2”项下方法制备阴性对照溶液。

2.3 线性关系考察

分别精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液1、5、10、15、20 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以进样量(x, μg)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标,进行线性回归,得回归方程为 $y=1\ 141.98x+1.921$ ($r=0.999\ 9, n=5$)。结果表明,芍药苷进样量在0.061 0~1.220 8 μg范围内与其峰面积呈良好的线性关系。

2.4 精密度试验

精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液10 μl,按“2.1”项下色谱条件重复进样6次,记录峰面积。结果,芍药苷峰面积的RSD为0.89%,表明仪器精密度良好。

2.5 稳定性试验

取样品(批号:131024)适量,共6份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再于放置0、2、4、8、12 h时进样10 μl,记录峰面积。结果,芍药苷峰面积的RSD为1.3%,表明供试品溶液放置12 h内稳定性良好。

2.6 重复性试验

取样品(批号:131024)适量,共6份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算含量。结果,芍药苷的平均含量为0.578 6 mg/ml, RSD为1.2%,表明本方法重复性良好。

2.7 加样回收率试验

精密量取已知含量的样品(批号:131024)1 ml,共6份,置于10 ml量瓶中,分别精密加入“2.2.1”项下对照品贮备液(质量浓度0.122 1 mg/ml)5 ml,再加50%甲醇至刻度,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率,结果详见表1。

2.8 样品含量测定

精密量取3批样品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液。分别精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液与上述供试品溶液各10 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,按外标法计算样品中芍药苷的含量,结果详见表2。

表1 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 1 Results of recovery tests(n=6)

样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
0.578 6	0.610 5	1.177 6	98.12	98.77	1.09
0.578 6	0.610 5	1.189 8	100.11		
0.578 6	0.610 5	1.186 4	99.56		
0.578 6	0.610 5	1.180 7	98.62		
0.578 6	0.610 5	1.171 3	97.08		
0.578 6	0.610 5	1.183 6	99.10		

表2 样品含量测定结果(n=3, mg/ml)

Tab 2 Results of content determination of samples(n=3, mg/ml)

批号	芍药苷含量
131024	0.58
131212	0.64
140220	0.49

3 讨论

3.1 流动相的选择

文献报道HPLC法测定中药复方制剂中芍药苷含量的流动相系统有:乙腈-0.1%磷酸溶液、乙腈-水、甲醇-水、甲醇-0.1%磷酸溶液、甲醇-0.05 mol/L磷酸二氢钾溶液、甲醇-1.5%醋酸溶液等^[1-6]。本试验中比较了前4种流动相检测消核糖浆中芍药苷的情况,结果以乙腈-0.1%磷酸溶液(12:88, V/V)为流动相时,样品中芍药苷色谱峰能达到基线分离,峰形良好,阴性对照无干扰,故选其为流动相。

3.2 检测波长的选择

取芍药苷对照品溶液进行紫外光谱扫描,结果在230 nm波长处有最大吸收。此波长下,样品中芍药苷色谱峰检测灵敏,且阴性对照无干扰,故选定为测定波长。

3.3 供试品溶液制备方法的选择

样品分别以50%乙醇和50%甲醇稀释,均能起到醇沉除去样品中部分杂质的作用;取上清液经滤过后进样,后者色谱峰杂质较少、分离度较前者更佳,故选定50%甲醇稀释样品制备供试品溶液。经试验考察,样品加50%甲醇稀释摇匀后静置1 h即可使其基本沉淀完全,再取上清液经滤过即可进样。

综上所述,本方法简便、快速,结果准确,可作为消核糖浆中芍药苷的含量测定方法。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:97、419、435.
- [2] 赵剑,陈玉兰,蒲清荣,等.茵陈四苓颗粒质量标准研究[J].中成药,2014,36(4):763.
- [3] 毕映燕,李季文,刘效栓,等.HPLC法测定复方赤芍颗粒中芍药苷含量[J].中国中医药信息杂志,2014,21(4):78.
- [4] 弓晓东,谈瑄忠,毛春芹,等.芍红消积颗粒的质量标准研究[J].中国药房,2012,23(3):250.
- [5] 白雪媛,常桂娟,杨吉平,等.HPLC法测定血复生片中芍药苷的含量[J].中药新药与临床药理,2014,25(2):216.
- [6] 赵佳丽,肖国栋,徐宏祥,等.HPLC测定咽炎片中的黄芩苷、芍药苷和丹皮酚[J].华西药学杂志,2014,29(4):476.

(收稿日期:2014-11-07 修回日期:2015-01-26)

(编辑:余庆华)