

HPLC法测定八珍丸(浓缩丸)中芍药苷的含量

黄卫娟*,何秀云,刘杰,郑武娟,陈丽英(东莞市第五人民医院,广东 东莞 529600)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)15-2126-02
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.15.37

摘要 目的:建立测定八珍丸(浓缩丸)中芍药苷含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Wonda Sil C₁₈,流动相为乙腈-1%磷酸(15:85, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为230 nm,柱温为30 ℃。结果:芍药苷检测进样量线性范围为0.219~1.32 μg($r=0.999\ 9$);精密度、稳定性、重复性试验的RSD<1%;加样回收率为95.82%~101.82%(RSD=2.13%, $n=6$)。结论:该方法操作简便、稳定、重复性好,可用于八珍丸(浓缩丸)中芍药苷含量的测定。

关键词 八珍丸(浓缩丸);芍药苷;高效液相色谱法

Content Determination of Paeoniflorin in Bazhen Pill (Concentrated Pill) by HPLC

HUANG Weijuan, HE Xiuyun, LIU Jie, ZHENG Wujuan, CHEN Liying (The Fifth People's Hospital of Dongguan, Guangdong Dongguan 529600, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of paeoniflorin in Bazhen pill (concentrated pill). METHODS: HPLC was performed on the column of wondasil C₁₈ with mobile phase of acetonitrile -1% phosphoric acid (15:85, V/V) at a flow rate of 1.0 ml/min, the detection wavelength was 230 nm, and column temperature was 30 ℃. RESULTS: The linear range of paeoniflorin was 0.219-1.32 μg($r=0.999\ 9$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 1%; recovery was 95.82%-101.82% (RSD=2.13%, $n=6$). CONCLUSIONS: The method is simple, stable and reproducible, and can be used for the content determination of Bazhen pill (concentrated pill).

KEYWORDS Bazhen pill (concentrated pill); Paeoniflorin; HPLC

八珍丸(浓缩丸)由党参、茯苓、熟地黄、白芍、当归等8种中药组合而成,具有补气益血之功效。芍药苷是一种单萜类糖苷化合物,是芍药的主要有效成分之一^[1-2],它在八珍丸发挥疗效过程中起着重要作用,但在现行标准——《卫生部药品标准中药成方制剂》(第八册)中只有显微鉴别方法,并无含量测定方法,且目前少有针对八珍丸(浓缩丸)中芍药苷含量测定的相关报道。为了更好地控制八珍丸(浓缩丸)的质量,笔者建立了采用高效液相色谱(HPLC)法测定八珍丸(浓缩丸)中芍药苷含量的方法。

1 材料

1.1 仪器

LC-15C型HPLC仪,包括SPD-15C紫外检测器、LabSolutions Essentia色谱工作站、SIL-10AF自动进样器、CTO-16柱温箱(日本Shimadzu公司);BT25S型电子天平(德国Sartorius公司);KQ-300型超声波清洗仪(江苏昆山超声波仪器厂)。

1.2 药品与试剂

八珍丸(浓缩丸)(兰州佛慈制药股份有限公司,批号:14A1、13L3,规格:9 g/粒;兰州太宝制药有限公司,批号:65110524、65110603,规格:9 g/粒);芍药苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110736-201136,纯度>98%);乙腈为

色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Wonda Sil C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-1%磷酸(15:85, V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:230 nm^[2];柱温:30 ℃;进样量:5 μl(对照品溶液)、10 μl(供试品溶液)。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液^[3-4] 取芍药苷对照品约10 mg,精密称定,置于100 ml量瓶中,加稀乙醇定容,制成芍药苷质量浓度为109.632 μg/ml的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液^[5-7] 取样品适量,研细,取约0.5 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入稀乙醇25 ml,称定质量,超声(功率:120 W,频率:40 kHz)处理30 min,放冷,再次称定质量,用稀乙醇补足减失的质量,摇匀,微孔滤膜滤过,即得。

2.2.3 阴性对照溶液 按八珍丸处方和制备工艺制备缺白芍的阴性样品,并按“2.2.2”项下方法制成阴性对照溶液。

2.3 专属性考察

分别取“2.2”项下对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱。结果,供

residues in fruits and vegetables by gas chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry[J]. *J Mass Spectrom*, 2008, 43(9): 1 235.

[9] 苏方华.桑叶的化学成分及临床应用研究发展[J]. *中国医*

药导报, 2010, 7(14): 9.

[10] 戴博,金红宇,田金改.中药中外源性有害残留物检测方法研究进展[J]. *药物分析杂志*, 2008, 28(6): 1 014.

(收稿日期:2015-05-01 修回日期:2015-08-15)

(编辑:张静)

*主管药师。研究方向:临床药学。电话:0769-85010247。
E-mail: 710753877@qq.com

试品溶液色谱图中,芍药苷峰与其他成分峰可完全分离;阴性对照溶液色谱图中,与芍药苷峰相同的保留时间处无杂质峰,表明阴性对照测定无干扰。色谱见图1。

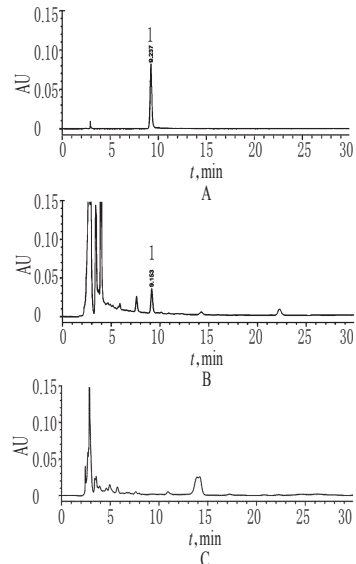


图1 高效液相色谱图
A.对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.芍药苷

Fig 1 HPLC chromatograms

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

2.4 线性关系考察

分别精密量取“2.2.1”项下对照品溶液2、4、6、8、10、12 μL,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以芍药苷进样量(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 $y=6.790\ 68\times 10^{-4}x+0.039\ 58(r=0.999\ 9)$ 。结果表明,芍药苷检测进样量线性范围为0.219~1.32 μg。

2.5 精密度试验

取“2.2.1”项下对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,芍药苷峰面积的RSD=0.24%(n=6),表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:14A1)适量,分别于室温下放置0、2、4、6、8、10 h时进样测定,记录峰面积。结果,芍药苷峰面积的RSD=0.96%(n=6),表明供试品溶液在10 h内基本稳定。

2.7 重复性试验

精密称取同一批样品(批号:14A1)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算含量。结果,芍药苷峰含量为3.885 8 mg/g, RSD=0.96%(n=6),表明本方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

取已知含量样品(批号:14A1)适量,共6份,分别加入一定质量的芍药苷对照品,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,计算样品含量并计算加样回收率,结果见表1。

2.9 样品含量测定

取3批样品各适量,分别按“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,计算样品含量,结果见表2。

3 讨论

3.1 检测波长的选择

表1 加样回收率试验结果(n=6)						
Tab 1 Results of recovery tests(n=6)						
取样量,g	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,%
0.142 5	0.553 7	0.548 2	1.093 5	98.47	98.97	2.13
0.141 4	0.549 5	0.548 2	1.085 1	97.70		
0.119 9	0.465 9	0.548 2	0.991 2	95.82		
0.118 2	0.459 3	0.548 2	1.017 5	101.82		
0.163 6	0.635 7	0.548 2	1.181 8	99.62		
0.165 8	0.644 3	0.548 2	1.194 6	100.38		

表2 样品含量测定结果(n=3)	
Tab 2 Results of content determination of sample(n=3)	
样品批号	芍药苷,mg/g
14A1	3.885 8
13L3	3.157 2
6511054	2.865 2
6511063	2.987 4

笔者在200~400 nm的波长范围内进行紫外吸收光谱扫描,发现芍药苷对照品在230 nm处有最大吸收,因此选择230 nm作为含量测定的检测波长。

3.2 提取条件的确定

在前期研究中,笔者对八珍丸(浓缩丸)中芍药苷进行了大孔树脂柱纯化分离操作,但该操作复杂且可能导致芍药苷转移次数较多的含量损失,不利于质量控制。考虑到芍药苷极性较大,参考相关文献,本试验采用超声提取,并考察了不同提取溶剂(50%、70%、95%甲醇和乙醇)、不同提取时间(15、30、40 min)对样品中芍药苷含量的影响。结果表明,用70%乙醇超声提取30 min的提取效率最高。

3.3 含量限度的确定

笔者参考2015年版《中国药典》(一部)规定白芍项下芍药苷按干品计算,芍药苷不得少于1.6%,即白芍药材每1 g含芍药苷应不得少于16 mg;并考虑不同白芍原料中芍药苷含量的差异、大生产过程的损失等因素及实际操作过程的误差,将白芍中芍药苷含量限度下浮至90%。本品含芍药苷应不得少于1.74 mg/g。

综上所述,本方法操作简便、稳定、重复性好,可用于八珍丸(浓缩丸)中芍药苷含量的测定。

参考文献

[1] 孙丽荣,曹雄,侯凤青,等.芍药苷研究进展[J].中国中药杂志,2008,33(18):2 028.

[2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015: 462.

[3] 魏桂林,李泽玲,吴珺,等.RP-HPLC波长切换法同时测定妇康片中3种成分的含量[J].中国实验方剂学杂志,2014, 20(11):58.

[4] 林景,陈桐楷.HPLC-MS/MS法测定牛黄降压丸中芍药苷的含量[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(1):84.

[5] 钱俊,林夏,王星星,等.双波长HPLC法同时测定妇科IV颗粒剂中芍药苷和虎杖苷的含量[J].药学与临床研究,2014,22(3):219.

[6] 毕映燕,李季文,刘效栓,等.HPLC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.

[7] 陈勇,蒋慧莲,周建良,等.HPLC法测定益炎净胶囊中芍药苷的含量[J].西北药学杂志,2013,29(5):492.

(收稿日期:2015-07-03 修回日期:2015-10-24)
(编辑:张 静)