

HPLC法测定糖肾康颗粒中丹皮酚的含量

宋钦兰*,林海青(山东中医药大学附属医院,济南 250011)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)12-1700-02
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.12.41

摘要 目的:建立测定糖肾康颗粒中丹皮酚含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Kromasil C₁₈柱,流动相为甲醇-水(43:57, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为274 nm,柱温为25 ℃,进样量为10 μl。结果:丹皮酚进样量在0.093 04~0.465 2 μg($r=0.999 9$)范围内与峰面积线性关系良好;精密性、重复性、稳定性试验的RSD≤1.56%;平均加样回收率为98.33%,RSD=0.81%($n=6$)。结论:该方法简便、准确、可靠,可用于糖肾康颗粒中丹皮酚的含量测定。

关键词 糖肾康颗粒;丹皮酚;高效液相色谱法

Content Determination of Paeonol in Tangshenkang Granules by HPLC

SONG Qin-lan, LIN Hai-qing (Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250011, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of paeonol in Tangshenkang granules. METHODS: HPLC was conducted. The column was Kromasil C₁₈ with the mobile phase of methanol-water (43:57, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min; the detection wavelength was 274 nm; the temperature was 25 ℃ and the volume was 10 μl. RESULTS: There was a good linear relationship between the volume of paeonol and the peak area in the range of 0.093 04-0.465 2 μg ($r=0.999 9$); the RSD of precision, repeatability and stability test was no more than 1.56% and the average recovery was 98.33% (RSD=0.81%, $n=6$). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate, replicable and can be used for the content determination of paeonol in Tangshenkang granules.

KEYWORDS Tangshenkang granules; Paeonol; HPLC

糖肾康颗粒是由黄芪、牡丹皮、茯苓、泽泻、山茱萸等药味经先进的制备工艺制得的中药医院制剂(鲁药制字Z01080187),具有益气、养阴、补肾、活血之功效,主要用于糖尿病和糖尿病肾病的治疗,临床应用多年,疗效确切。受历史检测水平等原因,本制剂质量标准较低,未对方中药味进行含量测定。丹皮酚是处方中主要活性成分^[1-3]。为保证本制剂临床效果,适应现代中药制剂质量控制的要求,本研究建立了高效液相色谱(HPLC)法测定其主要药味牡丹皮中丹皮酚的含量,以为糖肾康颗粒质量控制方法的建立提供依据。

1 材料

1.1 仪器

1200型HPLC仪(美国Agilent公司);UV2600型紫外可见分光光度计(日本岛津公司);AE200s型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司);KQ5200超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

丹皮酚对照品(批号:110708-200505,纯度:99.5%)购自中国食品药品检定研究院;糖肾康颗粒(本院制剂室自制,批号:131211、131217、131223,规格:3 g/包);甲醇为色谱纯,水为哇哈哈纯净水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Kromasil C₁₈色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流

动相:甲醇-水(43:57, V/V);检测波长:274 nm;流速:1.0 ml/min;柱温:25 ℃;进样量:10 μl。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 取丹皮酚对照品适量,精密称定,加甲醇溶解制成每1 ml含丹皮酚25.51 μg的溶液。

2.2.2 供试品溶液 取本品研碎,取约5.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇50 ml,称定质量,超声处理(功率:250 W,频率:40 kHz)30 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,微孔滤膜(0.22 μm)滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性对照溶液 按照糖肾康颗粒的生产工艺、处方比例,制得缺牡丹皮的阴性样品,按“2.2.2”项下供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。

2.3 专属性试验

取上述对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液,按“2.1”项下色谱条件进行测定。结果,供试品中丹皮酚色谱峰能达到有效分离,且保留时间与相应对照品一致;阴性对照溶液在相同保留时间处无色谱峰,表明其余药味对丹皮酚测定无干扰。色谱见图1。

2.4 线性关系考察

精密称取丹皮酚对照品适量,加甲醇溶解制成每1 ml含46.52 μg的对照品溶液。分别精密量取2、4、6、8、10 ml于10 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,按照“2.1”项下色谱条件进行测定。以丹皮酚进样量(x)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标,进行线性回归,得回归方程 $y=2 266 978.2x-3 726.50$ ($r=0.999 9$)。结果表明,丹皮酚进样量在0.093 04~0.465 2 μg范围内与峰面积线性关系良好。

* 副主任药师。研究方向:中药制剂。电话:0531-68617733。
E-mail:sql1025@126.com

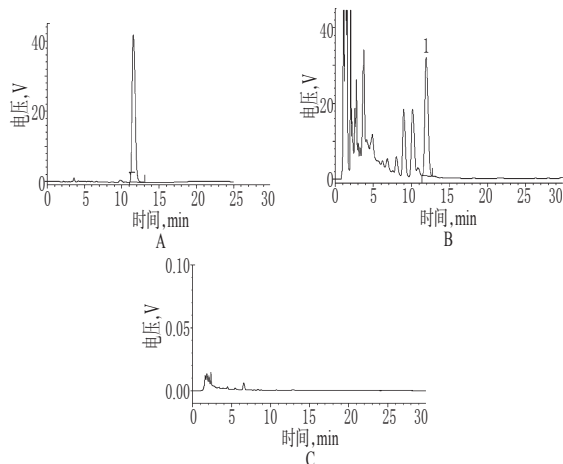


图1 高效液相色谱图

A.对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.丹皮酚

Fig 1 HPLC chromatograms

A.reference substances;B.test samples;C.negative control; 1.paeonol

2.5 精密度试验

取“2.2.1”项下对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件,连续进样6次。结果,丹皮酚峰面积RSD=0.38% (n=6),表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取本品5.0 g,精密称定,照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别于0、2、4、6、8、10、12 h,按“2.1”项下色谱条件进行测定。结果,丹皮酚峰面积RSD=1.08%,表明供试品溶液在12 h内稳定。

2.7 重复性试验

取本品(批号:131211)6份,各约5.0 g,精密称定,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进行测定。结果,丹皮酚含量平均值为0.150 mg/g,RSD=1.56%,表明本方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

取本品(批号:131211)6份,各约2.5 g,精密称定,分别精密加入丹皮酚对照品溶液1 ml(0.375 mg/ml),按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算回收率,结果见表1。

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,%
0.375 4	0.375 0	0.744 9	98.53		
0.375 7	0.375 0	0.743 8	98.16		
0.382 6	0.375 0	0.755 8	99.52	98.33	0.81
0.377 8	0.375 0	0.742 1	97.15		
0.375 5	0.375 0	0.742 8	97.95		
0.377 6	0.375 0	0.747 6	98.67		

2.9 样品含量测定

取糖肾康颗粒样品3批,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进行测定,结果见表2。

3 讨论

表2 样品含量测定结果(n=3)

Tab 2 Results of samples content determination(n=3)

成分	批号		
	131211	131217	131223
丹皮酚,mg/g	0.150	0.151	0.142
RSD,%	1.78	1.21	1.42

3.1 流动相的选择

流动相选择上,笔者参考了2010年版《中国药典》及相关文献中牡丹皮药材的含量测定方法^[4-6],分别试用了甲醇-水(45:55, V/V)、甲醇-水(43:57, V/V)等不同流动相比比例,结果以甲醇-水(43:57, V/V)为流动相时丹皮酚峰保留时间适中、基线低平,丹皮酚峰与杂质峰分离良好,故最终确定此流动相。

3.2 检测波长的选择

检测波长选择上,对丹皮酚对照品溶液进行光谱扫描,结果在274 nm波长处有较大吸收,同时考虑其他杂质干扰最小,故确定检测波长为274 nm^[7-8]。

3.3 超声提取时间的考察

供试品制备中曾分别以甲醇超声和甲醇回流处理样品^[9-10],结果丹皮酚提取率相差不大,由于超声提取操作简便易行,故选用以甲醇超声提取,并考察了超声15、30、45 min对提取率的影响。结果发现,超声30 min时成分已提取完全,故最终确定文中供试品制备方法。

综上所述,该方法简便、准确、可靠,可用于糖肾康颗粒中丹皮酚的质量控制。

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,2010:160-161.
- [2] 王祝举,唐力英,赫炎.牡丹皮的化学成分和药理作用[J].国外医药植物药分册,2006,21(4):155.
- [3] 孙言才,沈玉先,孙国平.丹皮酚的主要药理活性研究进展[J].中成药,2004,26(7):65.
- [4] 阳勇,彭福,莫宗成,等.HPLC测定不同产地牡丹皮中5个化学成分的含量[J].中药材,2013,36(3):416.
- [5] 林世和,易艳东,陈军,等.清脉颗粒中丹皮酚的鉴别和含量测定[J].中国医院药学杂志,2013,33(19):1 633.
- [6] 蔡清宇,唐慧慧,王敏,等.HPLC测定女金片中丹皮酚含量[J].中国中医药信息杂志,2013,20(8):59.
- [7] 代丽萍,谢小龙,鲁艳清,等.HPLC测定丹芍方提取物中丹皮酚、芍药苷的含量[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(17):127.
- [8] 许亚玲,罗曼,周兰,等.HPLC法测定乳癖消片(胶囊)中丹皮酚的含量[J].中国药房,2011,22(8):755.
- [9] 兰保强,饶伟源,张玲,等.HPLC测定丹皮酚缓释片中的丹皮酚[J].华西药学期刊,2014,29(5):585.
- [10] 曾聪彦,胡玉良,高嘉欣. HPLC法测定熄风通脑胶囊中丹皮酚的含量[J].中医学报,2013,41(2):54.

(收稿日期:2014-04-09 修回日期:2014-06-03)

(编辑:余庆华)