

HPLC 法测定十三太保丸中芍药苷的含量

□刘东霞* (天津中新药业集团股份有限公司达仁堂制药厂 天津 300457)

耿 彤 (天津中新药业研究中心 天津 300457)

徐 娜 (天津中新药业集团股份有限公司达仁堂制药厂 天津 300457)

孙传腾 (天津中新药业研究中心 天津 300457)

黄丽华 (天津中新药业集团股份有限公司达仁堂制药厂 天津 300457)

摘 要:目的:建立 HPLC 法测定十三太保丸中芍药苷含量的方法。方法:色谱柱:Phenomenex GEMINI C₁₈ (5 μ m, 4.6mm $\times$ 250mm); 流动相:乙腈-0.1%磷酸(17:83); 检测波长:270nm; 流速:1.0mL $\cdot$ min⁻¹。结果:线性范围为 0.0255~0.5110 μ g($r=0.9995$), 平均回收率为 97.98%, RSD 为 1.50%, 重复性 RSD 为 1.05%($n=6$), 精密度 RSD 为 0.85%($n=6$), 稳定性 RSD 为 0.54%。结论:本方法稳定、可靠,可作为该制剂的质量控制方法。

关键词:十三太保丸 芍药苷 HPLC

中医著名妇科良方十三太保丸处方出自《傅青主女科·产后篇·补篇》。由川芎、当归、白芍、羌活、枳壳、厚朴、黄芪等十三味中药组成,主治孕妇气血两亏,屡经小产,胎动不安。白芍为十三太保丸处方中主要药味,具有平肝止痛,养血调经,敛阴止汗的功效,芍药苷为白芍中有效成分之一^[1]。采用 HPLC 法测定十三太保丸中芍药苷的含量,该方法结果准确、重复性好且快速简便,可作为十三太保丸质量的定量检测方法。

一、仪器与试剂

Lab Allaince Series 1500 高效液相色谱仪(美国 Lab Allaince 公司生产)。芍药苷对照品(批号 110736-200630)购自中国药品生物制品检定所;十

三太保丸由天津中新药业集团股份有限公司达仁堂制药厂提供;乙腈、甲醇为色谱纯,水为超纯水,其它试剂均为分析纯。

二、方法与结果

1. 色谱条件

色谱柱:Phenomenex GEMINI C₁₈ (5 μ m, 4.6mm $\times$ 250mm); 流动相:乙腈-0.1%磷酸(17:83); 检测波长:230nm; 流速:1.0mL $\cdot$ min⁻¹; 理论塔板数按芍药苷峰计算应不低于 2000。

2. 对照品和供试品的配制

(1) 对照品溶液的制备。

精密称取芍药苷对照品 5mg, 置于 10mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,作为对照品储备液。精密取对照品储备液 1mL, 甲醇定容置 10mL 容量瓶中作为对照品溶液。

收稿日期:2009-07-16

修回日期:2009-07-13

* 联系人:刘东霞,中级工程师,主要研究方向:药品检验, Tel: 02225295071, E-mail: kintgaint@126.com。

465 [World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica]

(2) 供试品溶液的制备。

取十三太保丸, 剪碎, 约 0.5g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入稀乙醇 25mL, 称定重量, 加热回流 1h, 放冷, 称定重量, 用稀乙醇补足重量, 滤过, 即得。

3. 测定方法

精密吸取上述供试品溶液与对照品溶液各 10 μ L, 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图。按外标法计算样品的含量。

4. 方法学考察

(1) 标准曲线的制备。

精密称取芍药苷对照品 5.11mg, 置 10mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 得到 0.511mg $\cdot$ mL⁻¹ 的对照品储备液。精密移取对照品储备液适量, 配制成 0.0511mg $\cdot$ mL⁻¹、0.0255mg $\cdot$ mL⁻¹、0.0204mg $\cdot$ mL⁻¹、0.0102mg $\cdot$ mL⁻¹、0.0051mg $\cdot$ mL⁻¹、0.0026mg $\cdot$ mL⁻¹ 的对照品溶液。分别注入高效液相色谱仪, 以进样量为横坐标, 以相应的峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 并以最小二乘法计算得标准曲线为: $y = 3885898.5133x - 8729.4286$ ($r = 0.9995$), 结果显示芍药苷对照品在 0.0255~0.5110 μ g 的范围内与峰面积呈良好的线性关系。

(2) 精密度试验。

取供试品溶液, 按上述色谱条件于同日内重复进样 6 次, 测定峰面积, 结果 RSD 为 0.85% ($n = 6$)。

(3) 稳定性试验。

取供试品溶液, 按上述色谱条件每隔一定时间进样 1 针, 测定峰面积, 结果在 8h 内供试品溶液峰面积 RSD 为 0.54%。表明供试品溶液在 8h 内基本无变化, 稳定性良好。

(4) 空白试验。

称取缺麻黄的十三太保丸样品, 按照(2)项下操作制备阴性对照溶液, 与十三太保丸供试品溶液比较, 阴性对照对十三太保丸的测定无干扰(图 1~图 3)。

(5) 重复性试验。

精密称取同一批号样品 6 份, 制备供试品溶液, 测定峰面积并计算芍药苷含

量, 结果芍药苷平均含量为 2.98mg $\cdot$ g⁻¹, RSD 为 1.05% ($n = 6$)。

(6) 加样回收率试验。

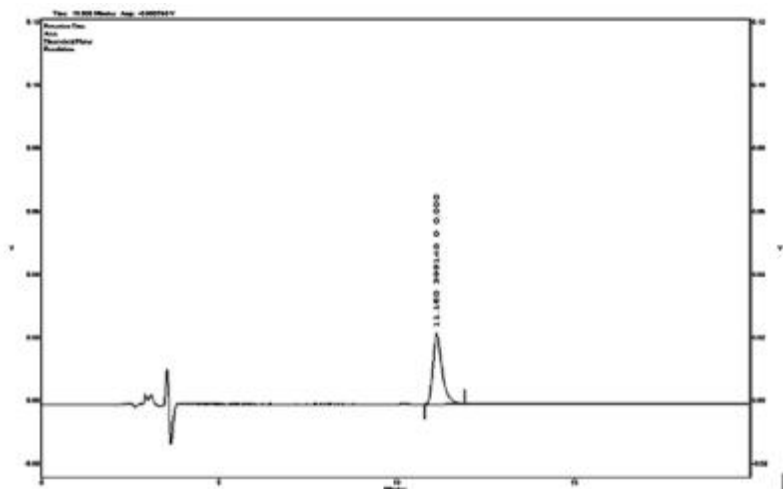


图 1 芍药苷对照品 HPLC 色谱图

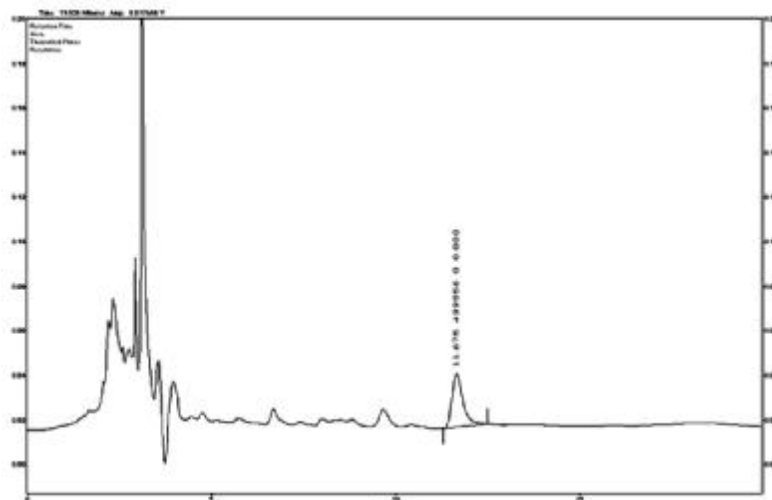


图 2 十三太保的丸样品 HPLC 色谱图

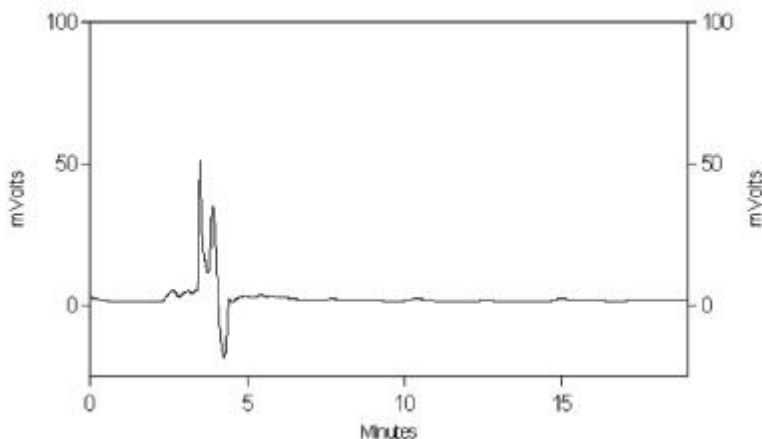


图 3 白芍阴性 HPLC 色谱图

精密称取已知含量样品 6 份, 每份约 0.25g, 精密加入芍药苷对照品溶液适量, 制备供试品溶液, 测定峰面积并计算含量, 结果中平均回收率为 97.98%, RSD 为 1.50% (见表 1)。

5. 样品含量测定

取三批十三太保丸, 按(2)项下操作, 测得芍药苷的含量分别为 $2.99\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $3.05\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $3.11\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

三、讨 论

1. 提取方法的考察

使用不同方法(加热回流、超声)进行提取, 试验结果表明提取时间相同的情况下, 加热回流提取率较高。并对提取时间进行考察(0.5h、1h、1.5h), 结果表明 1h 可以提取完全。最终确定提取方法为加热回流 1h。

2. 流动相的考察

对乙腈-0.1%磷酸(17:83)、甲醇-0.05mol·L⁻¹磷酸二氢钾溶液(30:70)、乙腈-水(10:90)等不同流动相进行考察, 结果乙腈-0.1%磷酸(17:83)的分离效果最佳, 保留时间适中, 故选其为流动相^[2-5]。

3. 色谱柱的选择

使用不同的十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂的色谱柱进行测定, 如 Agilent C₁₈(5μm, 4.6mm×250mm)、YMC C₁₈(5μm, 4.6mm×250mm)、Phenomenex GEMINI C₁₈(5μm, 4.6mm×250mm)。色谱峰峰型和分离度良好, 测定结果不受影响, 表明本方法耐用性良好。

本方法简便易行、结果准确且重复性好, 可作为十三太保丸质量的定量检测方法。

参考文献

- 1 南京中医药大学. 中药大辞典. 上海: 上海科学技术出版社, 2006.
- 2 滕宇, 李正言, 李铁铭, 等. HPLC 法测定抗感片中芍药苷的含量. 辽宁中医药大学学报, 2008, 10 (4): 140~141.
- 3 丁玉芬, 孙成娟, 李桂明. 用高效液相色谱法测定保胎灵片中芍药苷的含量. 中国中医药杂志, 2008, 6(3): 3~5.
- 4 陈翔. 高效液相色谱法测定十全大补颗粒中芍药苷含量. 中国药业, 2008, 17(6): 25~26.
- 5 李越峰, 杨武亮, 沈菲, 等. 高效液相色谱测定白芍中芍药苷的含量. 时珍国医国药, 2008, 19(2): 438~439.

表 1 回收率试验结果

编号	称样量 (g)	实测含量 (mg)	加入对照 品量(mg)	加入样品 含量(mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.2294	0.1250	0.0511	0.0758	96.13	97.98	1.50
2	0.2385	0.1282	0.0511	0.0788	96.63		
3	0.2451	0.1308	0.0511	0.0810	97.41		
4	0.2548	0.1348	0.0511	0.0842	98.96		
5	0.2517	0.1338	0.0511	0.0832	98.98		
6	0.2464	0.1324	0.0511	0.0815	99.78		

HPLC Determination of Paeoniflorin Content in Shisan Taibao Pill

Liu Dongxia¹, Geng Dan², Xu Na¹, Sun Chuanteng², Huang Lihua¹

(1. Darentang Pharmacy, Zhongxin Pharmaceuticals, Tianjin 300457, China;

2. R&D Center, Zhongxin Pharmaceuticals, Tianjin 300457, China)

The paper presents an approach to determine Paeoniflorin content in Shisan Taibao Pill using HPLC. In the study, Paeoniflorin was assayed on a Phenomenex GEMINI C₁₈ (5μm, 4.6mm×250mm) column, with the mobile phase composed of Acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (17:83) at a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. The determination wavelength was set at 270 nm. The linear calibration curves were ranged between 0.0255~0.5110μg (r=0.9995) for Paeoniflorin. The averages recovery (n=6) of Paeoniflorin was 97.98% (RSD=1.50%). Results show that the method is simple, reliable, accurate, and repeatable, desirable for the quality control of Shisan Taibao Pill.

Keywords: Shisan Taibao Pill; Paeoniflorin; HPLC

(责任编辑: 李沙沙 崔建华, 责任译审: 邹春申)