

HPLC 同时测定妇康片中芍药苷和阿魏酸的含量

李中娥*, 王春颖

(南阳市食品药品检验所, 河南 南阳 473061)

[摘要] 目的: 建立同时测定妇康片中芍药苷和阿魏酸含量的测定方法。方法: 采用 Phenomsil C₁₈ 色谱柱, 以乙腈-0.1% 磷酸(17:83)为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 230 nm。结果: 芍药苷在 9.3~74.4 mg·L⁻¹ 呈良好的线性关系($r=0.9996$), 平均回收率 98.47%, RSD 1.34%。阿魏酸在 5.2~41.6 mg·L⁻¹ 呈良好的线性关系($r=0.9995$), 平均回收率 97.96%, RSD 1.44%。结论: 本法简便、灵敏、准确、重复性好, 可用于妇康片的质量控制。

[关键词] 妇康片; 芍药苷; 阿魏酸; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)10-0143-03

Determination of Paeoniflorin and Ferulic Acid in Fukang Tablets by HPLC

LI Zhong-e*, WANG Chun-ying

(Nanyang Institute for Food and Drug Control, Nanyang 473061, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a determination method for paeoniflorin and Ferulic acid in Fukang tablets. **Method:** The determination was performed on a Phenomsil C₁₈ column with acetonitrile-0.1% phosphoric acid (17:83) as the mobile phase. The detection wavelength was at 230 nm. **Result:** Paeoniflorin presented a good linearity in the concentration range of 9.3-74.4 mg·L⁻¹. The average rate of recovery was 98.47% with RSD 1.34%. Ferulic acid presented a good linearity in the concentration range of 5.2-41.6 mg·L⁻¹. The average rate of recovery was 97.96% with RSD 1.44%. **Conclusion:** This method was simple, accurate and reproducible, it can be used as the basis for quality control of Fukang tablets.

[Key words] Fukang tablets; paeoniflorin; ferulic acid; HPLC

妇康片收载于《部颁药品标准》中药成方制剂第 12 册, 由益母草、阿胶、延胡索、当归、白芍、川芎、熟地、甘草等组成, 具有补气、养血、调经之功效。现行标准仅有显微鉴别和延胡索的薄层色谱鉴别项而没有含量测定项, 不能很好控制产品质量, 为保证临床用药安全有效, 本文参考有关文献[1-12], 用高效液相色谱法同时测定其方中当归、川芎的有效成分阿魏酸以及白芍的有效成分芍药苷的含量。

1 材料

1.1 仪器 Waters2695 型高效液相色谱仪, Waters 2996 型紫外检测器, BP-211D 型赛多利斯电子天平, KQ-300DE 型数控超声波仪。

1.2 试药 芍药苷对照品(批号 110736-200933),

阿魏酸对照品(批号 110773-200611)皆由中国药品生物制品检定所提供, 乙腈(色谱纯, 天津市彪士奇科技发展有限公司), 磷酸(分析纯, 上海市基准化学试剂有限公司), 水为重蒸馏水。妇康片(市售)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Phenomsil C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.1% 磷酸(17:83), 检测波长 230 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 35 °C, 进样量 10 μL。理论板数按芍药苷峰计算不低于 3 000。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取芍药苷对照品 16.05 mg, 置 20 mL 量瓶中, 加甲醇适量使其溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为芍药苷对照品储备液。精密称取阿魏酸对照品 14.26 mg, 置 100 mL 棕色量瓶中, 加甲醇适量使其溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为阿魏酸对照品储备液。精密量取上述芍药苷对照品储备液 2 mL、阿魏酸对照品储备液 5 mL, 置同

[收稿日期] 20110916(002)

[通讯作者] * 李中娥, 主管药师, 学士, 从事药品检验工作, Tel:0377-63892589, E-mail:lizhong@126.com

一 50 mL 棕色量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得每 1 mL 含芍药苷 32.10 μg 、含阿魏酸 14.26 μg 的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品 10 片,研细,精密称取 1 g,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,密塞,称定质量,超声处理 30 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足缺失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,用微孔滤膜滤过,即得。

2.2.3 阴性对照溶液制备 因当归、川芎同含阿魏酸,故在排除阿魏酸阴性干扰实验时将二者同时去除。按处方制法分别制备缺当归、川芎和缺白芍及缺三味药的阴性样品,按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。

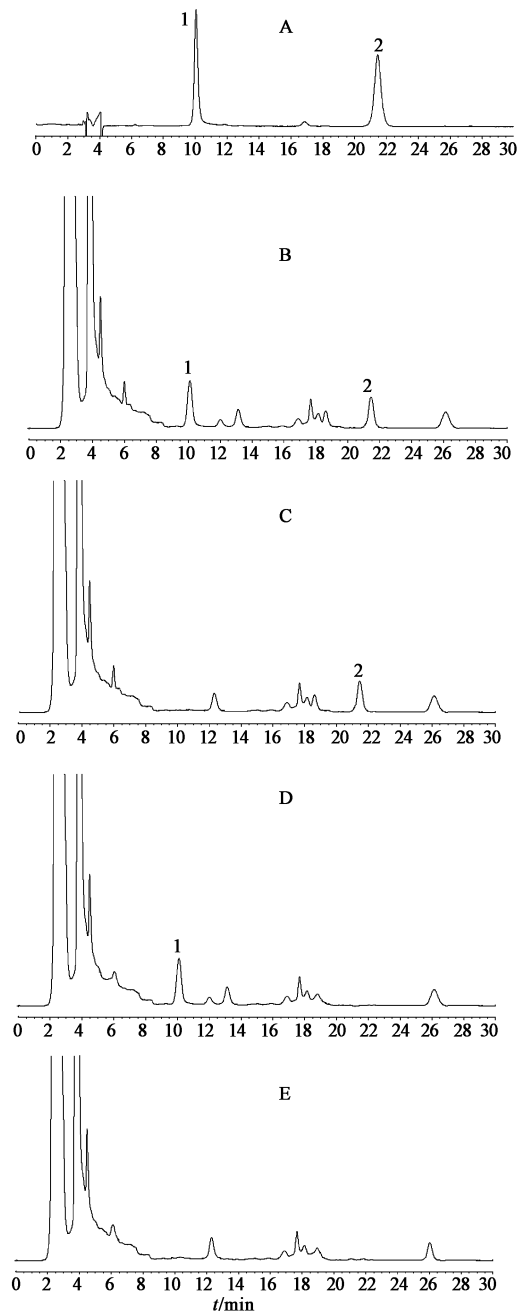
2.3 专属性试验 吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各 10 μL ,按上述色谱条件分别进样,结果供试品色谱中,在与芍药苷和阿魏酸对照品色谱相同的保留时间处有色谱峰,与其他组分能达到基线分离,分离度 > 1.5 ,理论塔板数分别为 7 252, 6 338;阴性对照色谱中,在与芍药苷和阿魏酸对照品色谱峰相应的位置上无干扰峰,说明供试品溶液中的其他成分对测定结果无影响,见图 1。

2.4 线性关系的考察 精密称取芍药苷对照品、阿魏酸对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含芍药苷 93 μg 、含阿魏酸 52 μg 的溶液,精密吸取 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 mL 分别置 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,按上述 2.1 色谱条件测定,以测得的芍药苷和阿魏酸峰面积为纵坐标,两者浓度为横坐标,分别绘制标准曲线,求得芍药苷回归方程为 $Y = 25\ 196 X + 452.51 (r = 0.999\ 6)$,阿魏酸回归方程为 $Y = 15\ 144 X + 489.11 (r = 0.999\ 5)$,结果表明,芍药苷在 9.3 ~ 74.4 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 呈良好的线性关系,阿魏酸在 5.2 ~ 41.6 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验 取 2.2.1 项下的对照品溶液,进样量 10 μL ,连续进样 6 次,测定峰面积,结果芍药苷和阿魏酸的峰面积 RSD 分别为 0.68%, 1.10%,表明精密度良好。

2.6 重复性试验 取同一批号样品 6 份,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,以 2.1 项下色谱条件测定每份样品中芍药苷和阿魏酸的含量,结果芍药苷含量平均值为 1.612 2 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD 1.06%,阿魏酸含量平均值为 0.285 5 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD 1.32%,说明重复性良好。

2.7 稳定性试验 取室温避光保存的供试品溶液,分别在 0, 2, 4, 6, 8 h 进样测定峰面积,结果其芍药



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照(缺当归、川芎);
D. 阴性对照(缺白芍); E. 阴性对照(缺当归、川芎及白芍);
1. 阿魏酸; 2. 芍药苷

图 1 对照品、供试品及阴性对照 HPLC

苷和阿魏酸的峰面积 RSD 分别为 0.63%, 1.49%。表明制备的供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.8 加样回收率试验 精密称取已测得含量(芍药苷 1.613 6 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 、阿魏酸 0.286 8 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)的妇康片 6 份,每份约 0.5 g,分别精密加入 2.2.1 项下的芍药苷对照品和阿魏酸对照品储备液各 1 mL 及甲醇 23 mL,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,进样 10 μL 测定,计算回收率,结果见表 1。

表1 妇康片中2种成分加样回收

成分	取样量 /g	样品中 含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 %	平均 回收率 /%	RSD /%
芍药苷	0.501 6	0.809 4	0.802 5	1.612 9	100.12	98.47	1.34
	0.497 7	0.803 1	0.802 5	1.603 3	99.71		
	0.503 8	0.812 9	0.802 5	1.601 7	98.29		
	0.500 3	0.807 3	0.802 5	1.599 6	98.73		
	0.498 1	0.803 7	0.802 5	1.581 2	96.88		
	0.499 0	0.805 2	0.802 5	1.584 5	97.11		
阿魏酸	0.501 6	0.143 9	0.142 6	0.283 2	97.69	97.96	1.44
	0.497 7	0.142 7	0.142 6	0.285 5	100.14		
	0.503 8	0.144 5	0.142 6	0.284 9	98.46		
	0.500 3	0.143 5	0.142 6	0.280 1	95.79		
	0.498 1	0.142 9	0.142 6	0.282 7	98.04		
	0.499 0	0.143 1	0.142 6	0.282 3	97.62		

2.9 样品测定 按2.2.2样品溶液的制备方法和2.1色谱条件试验,测定了不同厂家共6批样品中芍药苷和阿魏酸的含量,结果见表2。

表2 6批样品中阿魏酸和芍药苷的含量($n=3$) $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$

厂家	批号	芍药苷	阿魏酸
A	20091216	1.586 1	0.243 8
A	20100803	1.632 6	0.278 2
A	20100619	1.613 2	0.285 9
B	20100622	1.721 9	0.255 1
B	20100912	1.756 3	0.294 9
B	20100527	1.662 7	0.267 5

3 讨论

阿魏酸是妇康片中当归、川芎两味主药的有效成分之一,它的特性是易溶于醇类等极性溶剂。阿魏酸不稳定,见光、加热均易分解^[7],所以配置对照品时采用棕色量瓶,而样品超声溶解时水浴温度也宜在30℃以下,并注意有关操作应尽量在避光条件下快速进行。

妇康片原标准太过简单,无法从量上控制该药品的质量,对于其质量标准的提高也有相关报道^[24]。芍药苷是方中另一味主药白芍的有效成分,本文采取了芍药苷与阿魏酸同时检测^[9-12],以使一次检测可控制方中3味药的含量。参考文献

[9-10],以230 nm作为检测波长,结果2成分的响应信号良好。在流动相的选择上,某些文献^[10-12]采用梯度洗脱方式获得了理想的分离度和塔板数,本文经过实验,以乙腈-0.1%磷酸(17:83)等度洗脱亦得到好的分离效果,既节省时间,又可为部分不具备四元梯度泵检测设备的企业提供便利,故选其为本文流动相。

根据所测得的结果,考虑到不同生产厂家所用药材产地会有不同,以及生产过程中的损失,暂拟定每1 g妇康片中阿魏酸含量应不少于0.20 mg,芍药苷含量应不少于1.30 mg。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010;38,97,124,729.
- [2] 王健,范文成,叶晓红. HPLC测定妇康片中阿魏酸的含量[J].中国实验方剂学杂志,2008,14(8):15.
- [3] 马杰. HPLC法测定妇康片中阿魏酸的含量[J].中国当代医药,2009,16(7):170.
- [4] 夏军龙,张鹏,李巧如. HPLC法测定妇康片中延胡索乙素的含量[J].现代中医药,2006,26(4):48.
- [5] 唐力英,王祝举,赫炎,等.高效液相色谱法测定当归中阿魏酸的含量[J].中国实验方剂学杂志,2006,12(2):14.
- [6] 张延华,朱永红.含阿魏酸药物制剂含量分析及质量表征研究进展[J].武警医学院学报,2009,18(10):895.
- [7] 吕海涛,王艳丽,王英芹.当归提取液中阿魏酸稳定性研究[J].中成药,2008,30(10):1555.
- [8] 王雁梅,康红钰,刘春杰.高效液相色谱法测定当归-川芎药对配伍复方中阿魏酸的含量[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(7):61.
- [9] 孟令丹,陈晓辉,姚燕. RP-HPLC法同时测定四物合剂中芍药苷和阿魏酸的含量[J].药物分析杂志,2006,26(10):1398.
- [10] 严红. HPLC法同时测定中药多种有效成分含量的应用[J].天津药学,2010,22(1):67.
- [11] 马彬峡,陈恒冲,吴春高,等. RP-HPLC法同时测定乐脉颗粒中丹参素、原儿茶醛、芍药苷和阿魏酸的含量[J].药物分析杂志,2009,29(7):1122.
- [12] 毛晓敏,张小波,陈小清,等. HPLC法同时测定十二乌鸡白凤丸中芍药苷、阿魏酸和丹皮酚的含量[J].中成药,2008,30(5):678.

[责任编辑 蔡仲德]