

HPLC 测定二妙丸中苍术素

王琰*

(山东中医药大学附属医院, 济南 250011)

[摘要] 目的:建立 HPLC 测定二妙丸中苍术素的方法。方法:采用 Kromasil C₁₈(4.6 mm × 150 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相甲醇-水(79:21), 检测波长 340 nm。结果:苍术素在 42.2 ~ 675.0 mg · L⁻¹ 呈良好线性关系($r = 0.9997$), 平均加样回收率 99.18%, RSD 1.49%。结论:该法操作简便, 结果可靠, 为二妙丸的质量研究提供有效的方法。

[关键词] 二妙丸; 苍术素; 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(2011)24-0065-02

Determination of Atractylodin in Ermiao Pill by HPLC

WANG Yan*

(Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250011, China)

[Abstract] **Objective:** To determine atractylodin in ermiao pill to provide scientific basis for its quality control. **Method:** A kromasil C₁₈(4.6 mm × 150 mm, 5 μm) liquid chromatographic column was used. The mobile phase was alcohol-water. Wavelength was at 340 nm. **Result:** The linear range of atractylodin was within 42.2-675.0 mg · L⁻¹ ($r = 0.9997$), sample recovery rate was 99.18%, RSD 1.49%. **Conclusion:** This method has good repeatability and flexibility. It can be used for quality control in production of ermiao pill.

[Key words] Ermiao pill; atractylodin; HPLC

二妙丸是收载于 2010 年版《中国药典》中的名方, 临床广泛应用于湿热下注, 足膝红肿热痛, 下肢丹毒, 白带, 阴囊湿痒等症^[1]。处方由苍术(炒)和黄柏(炒)2 味药组成, 现行药典中仅采用薄层色谱扫描法对其黄连小檗碱进行了含量测定。为全面提高产品质量标准, 保证临床用药安全、有效, 笔者采用高效液相色谱法对苍术(炒)中的主要成分苍术素进行了含量测定。

1 仪器与试剂

LC-2010A 型高效液相色谱仪(日本岛津 CLASS-VP 工作站), AE200s 型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司), KQ5200 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), 苍术素(上海中

药标准化研究中心, 批号 17-2001), 甲醇为色谱纯, 水为重蒸水, 其他试剂均为分析纯, 二妙丸(北京同仁堂制药有限公司, 批号 9083151, 9083145, 9083101, 规格 6 g/100 粒)。

2 方法与结果

2.1 溶液的配制

2.1.1 对照品溶液储备液的制备 精密称取苍术素对照品 13.50 mg, 置 10 mL 棕色量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 即得, 冰箱避光保存。

2.1.2 供试品溶液的制备 取二妙丸细粉 0.30 g, 精密称定, 置锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定质量, 超声处理(功率 250 W, 频率 40 kHz) 1 h, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得, 冰箱避光保存。

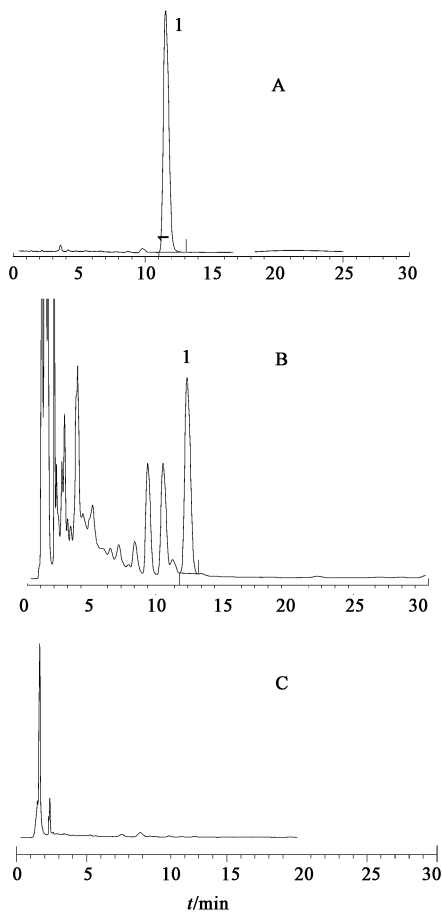
2.2 色谱条件与系统适应性试验 采用 Kromasil C₁₈(4.6 mm × 150 mm, 5 μm) 液相色谱柱, 以甲醇-水(79:21)为流动相, 流速 1 mL · min⁻¹, 检测波长 340 nm, 柱温 30 °C。取对照品溶液和供试品溶液各 10

[收稿日期] 20110809(004)

[基金项目] 山东省科技发展计划项目(2010GSF10284)

[通讯作者] *王琰, 副主任药师, 从事中药制剂, Tel: 15165413059, E-mail: wanyan196465@163.com

μL ,注入高效液相色谱仪,测定,苍术素的保留时间为 $t_{\text{R}} = 12.1 \text{ min}$ 。理论板数以苍术素峰计不低于 4 000,苍术素峰与相邻峰的分离度不小于 1.5(图 1)。



A. 对照品;B. 样品; C. 阴性;1. 苍术素
图 1 对照品、二妙丸样品和阴性的 HPLC

2.3 线性关系考察 精密量取对照品储备液 ($1.35 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 适量,加甲醇逐级稀释,分别制得质量浓度为 $675.0, 337.5, 168.8, 84.4, 42.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液,分别进样 $10 \mu\text{L}$,对照品浓度为横坐标,峰面积分值为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程为 $Y = 6 238.5X - 39.1 (r = 0.999 7)$,表明在此浓度范围内线性关系良好。

2.4 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液,连续进样 6 次,每次 $10 \mu\text{L}$,测定,苍术素峰面积 RSD 0.96%,表明精密度良好。

2.5 稳定性试验 精密称取二妙丸细粉 0.30 g ,照 2.1 项下方法制备供试品溶液,分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 照 2.2 色谱条件进行测定,结果苍术素峰面积 RSD 1.92%,表明供试品溶液在 10 h 内稳定。

2.6 重复性试验 称取二妙丸细粉(批号

9083151) 6 份,每份 0.30 g ,精密称定,照 2.1 项制备供试品溶液,照 2.2 色谱条件进行测定,结果苍术素含量 RSD 1.98%,表明本法重复性好。

2.7 回收率试验 精密称取二妙丸细粉约 0.15 g ,共 6 份,分别精密加入 $3.28 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品溶液 1 mL ,挥干溶剂,照 2.1 项下方法制备供试品溶液,进样 $10 \mu\text{L}$,测定,计算回收率,结果见表 1。

表 1 苍术素加样回收率 ($n = 6$)

No.	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	3.648 9	3.28	6.966 4	101.14		
2	3.399 9	3.28	6.649 7	99.08		
3	3.330 4	3.28	6.501 4	96.68	99.18	1.49
4	3.552 7	3.28	6.825 1	99.77		
5	3.045 5	3.28	6.283 9	98.73		
6	3.697 5	3.28	6.966 4	99.66		

2.8 供试品测定 取二妙丸样品 3 批,照 2.1 项下供试品溶液的制备方法制备供试品溶液,照 2.2 项下色谱条件测定,各批测定结果分别为 23.16, 22.74, 24.01 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

3 讨论

因所用苍术素对照品具有不饱和体系,在光照的条件下很不稳定,颜色容易加深^[2],因此在制备对照品和供试品时应置棕色瓶中冰箱避光保存,否则会影响测定结果的准确性,这可能也是现行药典暂未将苍术素测定列入二妙丸质量控制中的主要原因。

流动相选择上,分别试用了甲醇-水(75:25)、甲醇-水(79:21)、甲醇-水(82:18)等不同流动相比比例,结果以甲醇-水(79:21)时,基线低平,色谱峰分离度好,保留时间适中。供试品制备曾分别以甲醇超声和回流处理样品,结果采用回流提取比超声提取苍术素略有所损失,且超声提取操作简便,耗时短,无需加热,故选用以甲醇超声提取,同时考察发现超声 1 h 有效成分方可提取完全,故确定此提取时间。检测波长的选择参考药典,苍术素及供试品溶液在 340 nm 处均有最大吸收,故确定检测波长为 340 nm。

[参考文献]

[1] 中国药典.一部[S].2010.150.
 [2] 尤奋强,叶崇义.术类属药材挥发油化学的单体分离方法[J].江苏中医,1996,17(1):41.

[责任编辑 蔡仲德]