

HPLC 测定乌鸡白凤丸(水蜜丸)中芍药苷含量

刘春海*, 张妮瑜, 欧金秀

(九芝堂股份有限公司中药研究所, 湖南 长沙 410007)

[摘要] 目的: 建立乌鸡白凤丸(水蜜丸)中芍药苷含量测定的方法, 为制剂质量控制提供依据。方法: 采用 HPLC 法, 选用 Inertsil ODS-2 C₁₈ 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm), 乙腈-水(10: 90)为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长为 230 nm, 柱温 30 °C。结果: 芍药苷在 0.078 5~ 0.785 μg 范围内呈良好的线性关系($r = 0.999 9$), 平均加样回收率为 96.43%, RSD 为 1.42% ($n = 6$)。结论: 本方法快速, 准确, 重复性好, 适合于乌鸡白凤丸(水蜜丸)的质量控制。

[关键词] 乌鸡白凤丸(水蜜丸); 芍药苷; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2008)12-0013-03

乌鸡白凤丸(水蜜丸)是由乌鸡、鹿角胶、鳖甲(制)、白芍等 20 味中药组成的一种复方制剂, 具有补气养血, 调经止带之功效^[1]。其中白芍是方中的主要药物之一, 其主要成分为芍药苷。《中华人民共和国药典》2005 年版一部成方制剂乌鸡白凤丸中芍药苷的定量测定方法操作繁琐, 耗时长, 本文采用反相高效液相色谱法对芍药苷定量测定方法进行了方法学研究, 为乌鸡白凤丸(水蜜丸)的质量控制提供了更为简便可靠的方法。

1 仪器、药品与试剂

Waters 1525 高效液相色谱仪(美国沃特斯公司); Breeze 数据处理软件(美国沃特斯公司); 电子天平(AE240, 梅特勒-托利斯); 超声波清洗器(KQ-300DV, 昆山市超声仪器有限公司)。

芍药苷对照品(中国药品生物制品检定所提供, 批号: 110736-200525, 供含量测定用); 乌鸡白凤丸(水蜜丸): 自制, 批号: 20060201, 20060204, 20060205, 20060206。

乙腈为色谱纯(上海陆都化学试剂厂); 水为超纯水; 其他均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 C₁₈ 色谱柱(Inertsil ODS-2, 5 μm, 4.6 mm × 150 mm, ジーエルサイエンス株式会社); 乙腈-水(10: 90)为流动相; 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 检测波

长为 230 nm; 柱温 30 °C。理论塔板数按芍药苷计算, 不得低于 2 000。

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 15.7 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加稀乙醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为储备液; 精密量取储备液 5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加稀乙醇至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品适量, 研细, 取约 2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入稀乙醇 25 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理(功率 250 W, 频率 50 KHz) 30 分钟, 放冷, 用稀乙醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.3 阴性样品供试液的制备 按处方比例称取除白芍外其它药材, 依照供试品溶液的制备方法, 制成阴性对照溶液。

2.2.4 药材对照溶液的制备 取白芍药材 0.1 g, 依照供试品溶液的制备方法, 制成药材对照溶液。

2.3 系统适用性试验 分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液、药材对照溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 结果见图 1~ 4。

2.4 线性关系考察 精密吸取芍药苷对照品溶液 2.5, 5, 10, 15, 20, 25 μL 进样, 按上述色谱条件测定峰面积, 以对照品进样量(μg)为横坐标, 峰面积积分为纵坐标, 绘制标准曲线, 回归方程为: $Y = 7.0 \times 10^5 X - 1.4 \times 10^4$, $r = 0.999 9$ 。结果表明芍药苷在(0.078 5~ 0.785) μg 范围内具有良好的线性关系。

2.5 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液

[收稿日期] 2008-05-27

[通讯作者] * 刘春海, Tel: (0731) 5506387; E-mail: lch@hnjt.

com

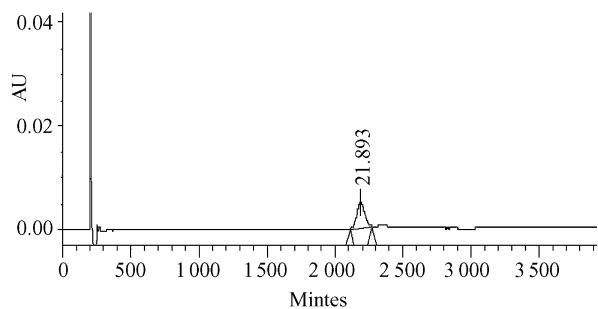


图 1 芍药苷对照品 HPLC 色谱图

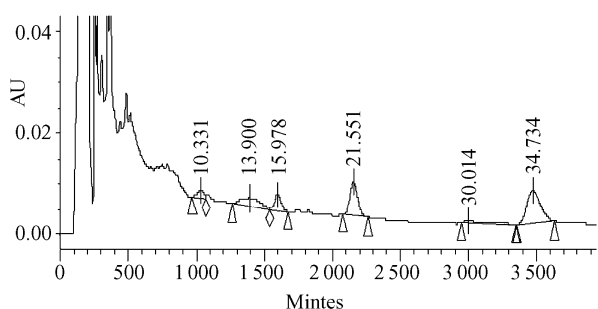


图 2 供试品 HPLC 色谱图

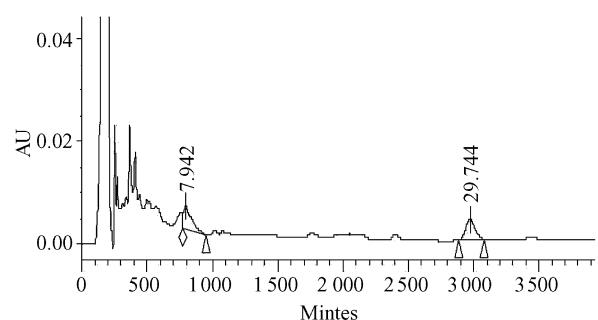


图 3 阴性对照 HPLC 色谱图

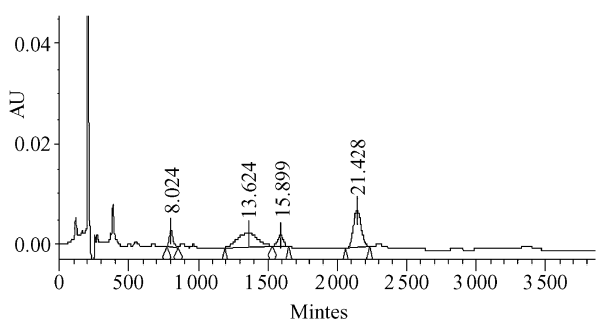


图 4 药材对照 HPLC 色谱图

10 μL , 重复进样 6 次, 测定芍药苷峰面积积分值, RSD 为 0.44%。结果表明精密度良好。

2.6 稳定性试验 分别精密吸取同一供试品溶液 10 μL , 分别在 0, 3, 6, 9, 15 h 进样, 测定其峰面积积分值, RSD 为 1.42%。结果表明供试品溶液在 15 h 稳定。

2.7 重复性试验 取同一批号的乌鸡白凤丸(水蜜丸) 2 g, 按 2.2.2 项下方法, 精密称定 6 份, 制备供试品溶液, 结果含量分别为 0.401, 0.410, 0.403, 0.409,

0.419, 0.408 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 平均含量为 0.408 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 为 1.55%。结果表明此方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验 精密量取上述芍药苷储备液 25 mL, 置 250 mL 量瓶中, 加稀乙醇至刻度, 摇匀, 即得(0.015 7 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)。

取乌鸡白凤丸(芍药苷的含量为 0.408 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$), 研细, 取约 1 g, 精密称定, 平行试验 6 份, 置具塞锥形瓶中, 分别精密加入芍药苷对照品溶液(0.015 7 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) 25 mL(即 0.392 mg), 按供试品溶液制备方法制备供试液, 按上述色谱条件测定其含量, 计算加样回收率, 平均为 96.43%, RSD 为 1.42% ($n=6$), 符合含量测定方法学要求。结果见表 1。

表 1 芍药苷回收率试验结果($n=6$)

取样量 (g)	样品中 含量(mg)	加入芍药 苷量(mg)	实测量 (mg)	回收率 (%)	平均回 收率 (%)	RSD (%)
1.007 1	0.411	0.392	0.796	98.21		
1.001 2	0.408	0.392	0.788	96.94		
0.951 3	0.388	0.392	0.761	95.15	96.43	1.42
0.978 9	0.399	0.392	0.772	95.15		
1.040 6	0.424	0.392	0.807	97.70		
0.979 7	0.400	0.392	0.774	95.41		

2.9 样品的含量测定 分别取 3 个批号的乌鸡白凤丸(水蜜丸) 约 2 g, 研细, 精密称定, 按供试液制备方法制备, 得供试液。按上述色谱条件, 进样 10 μL , 测定, 结果平均含量($n=2$) 分别为 0.404, 0.406, 0.398($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)。

3 小结与讨论

曾用中国药典 2005 年版一部成方制剂乌鸡白凤丸中芍药苷的定量方法进行了试验: 用 30% 乙醇浸泡, 时时振摇, 静置 24 h, 超声处理 30 min, 然后过 D101 型大孔吸附树脂柱, 用 30% 乙醇 100 mL 洗脱, 蒸干, 残渣用水 5 mL 分次溶解, 转移至 25 mL 置瓶中, 加甲醇定至刻度作为供试品溶液。从供试品的处理到测定需要两天时间, 增加了实验难度, 给检验工作带来了极大的不便, 而本实验采取的方法一天就可完成前处理及测定工作, 于其比较具有简单, 快捷等优点。

本实验参考中国药典 2005 年版乌鸡白凤丸及白芍项下及文献, 曾以甲醇-水(33: 67)、乙腈-0.1% 磷酸溶液(14: 86)、乙腈-水(15: 85)^[2] 为流动相均未能取得理想的分离效果, 经比较, 最终确定以乙腈-水(10: 90) 为流动相效果最佳。

实验中选用了水、50% 甲醇、稀乙醇作溶剂分别提取, 结果含量分别为 0.394, 0.387, 0.411 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 分离度均为 1.5 以上. 但考虑到 50% 甲醇毒性相对较大, 而水作溶剂则杂质峰多于稀乙醇, 故选用稀乙醇作为提取溶剂。

用稀乙醇作溶剂, 分别超声处理 15, 30, 45, 60 min, 结果含量分别为 0.391, 0.414, 0.413, 0.398 $\text{mg} \cdot$

g^{-1} , 表明超声处理 30 min 已基本提取完全。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005. 398-399.
- [2] 张菊红, 王志伟, 金吉琴, 等. 高效液相色谱法测定益妇胶囊中芍药苷的含量[J]. 中成药, 2001, 23(6): 409-411.