

# HPLC 法测定追风透骨丸中芍药苷的含量

李 虹 (辽宁省食品药品检验所, 沈阳 110023)

**摘要:** 建立追风透骨丸中芍药苷含量测定方法, 采用高效液相色谱法, 色谱柱: Diamonsil C<sub>18</sub> 色谱柱, 甲醇-乙腈-0.025 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸溶液 (2: 12: 86) 为流动相, 检测波长 230nm。芍药苷在 0.2048~1.024μg 之间线性关系良好,  $r=0.9998$ , 回收率为 97.9%, RSD 为 0.9%。该方法操作简单, 分离效果好, 灵敏度高, 可作为追风透骨丸的质量控制标准。

**关键词:** 追风透骨丸 芍药苷; 含量测定; HPLC

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777 (2008) 11-0992-02

## Determination of Paeoniflorin in Zhweifeng Tougu Pills by HPLC

Li Hong (Liaoning Provincial Institute for Control of Food and Drug, Shenyang 110023)

**ABSTRACT** A HPLC method for the determination of paeoniflorin in Zhweifeng Tougu Pills was established. A Diamonsil C<sub>18</sub> column was used with methanol-acetonitrile-0.025 mol·L<sup>-1</sup> solution of phosphoric acid (2: 12: 86) as the mobile phase. The detection wavelength was 230nm. The linear range was 0.2048~1.024μg ( $r=0.9998$ ) and average recovery was 97.9% (RSD 0.9%). The method is simple and sensitive with good separation efficiency. It can be used in the standard of Zhweifeng Tougu Pills.

**KEY WORDS** Zhweifeng Tougu Pills; paeoniflorin; determination; HPLC

追风透骨丸由制川乌、白芷、赤芍等二十四味药组成, 具有祛风除湿, 通经活络, 散寒止痛等功效<sup>[1]</sup>。其中赤芍中主要有效成分为芍药苷<sup>[2]</sup>, 为控制产品质量, 保证疗效, 我们建立了制剂中芍药苷的含量测定方法。

### 1 材料与仪器

LC-2010C 高效液相色谱仪, LC-2010C 紫外检测器。

芍药苷 (中国药品生物制品检定所, 批号: 110736-200527, 含量测定用), 甲醇、乙腈 (色谱纯, 天津市康科德科技有限公司), 重蒸水, 其它试剂为分析纯, 追风透骨丸 (沈阳中药制药有限公司)。

### 2 方法与结果

#### 2.1 溶液的制备

**2.1.1 对照品溶液的制备** 精密称取芍药苷对照品 12.50mg, 置 25mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密量取 1mL, 置 10mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

**2.1.2 供试品溶液的制备** 取本品, 研细, 取约 2.5g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入水 50mL, 称定重量, 超声处理 (功率 250W, 频率 33KHz) 50 分钟, 放冷, 再称定重量, 用水补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

**2.1.3 阴性供试溶液的制备** 按处方中药味比例制备缺赤芍的追风透骨丸, 照“2.1.2”项下操作, 制备阴性供试溶液。

**2.2 色谱条件** 色谱柱: Diamonsil C<sub>18</sub> (4.6mm × 200mm, 5μm), 流动相: 甲醇-乙腈-0.025mol·L<sup>-1</sup> 磷酸溶液 (2: 12: 86), 检测波长: 230nm, 流速: 1mL·min<sup>-1</sup>, 柱温: 30℃, 进样量: 10μL。理论板数: 大于 4000; 分离度: 2.1。

**2.3 线性关系考察** 分别精密吸取芍药苷对照品溶液 (浓度为 0.0512mol·mL<sup>-1</sup>) 4, 8, 12, 16, 20μL 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件在 230nm 波长处测定, 以进样量为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 经回归处理, 方程:

$$Y = 5.30038 \times 10^5 X + 2.1417 \times 10^4 \quad r = 0.9998$$

结果表明, 芍药苷进样量在 0.2048~1.024 μg 范围内线性关系良好。

**2.4 精密度试验** 精密吸取同一供试品溶液, 连续进样 6 次, 测定峰面积, RSD 为 0.8%, 表明精密度良好。

**2.5 稳定性试验** 精密吸取同一供试品溶液 10 μL, 分别于配制后 0, 2, 4, 6, 8 小时, 测定峰面积, RSD 为 1.7%, 结果显示, 供试品溶液在 8 小时内基本稳定。

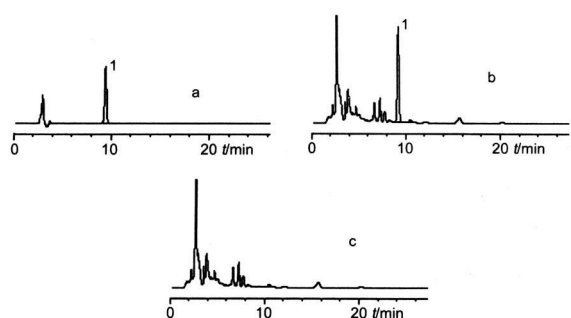
**2.6 重复性试验** 精密称取同一批 (批号: 071102) 样品 6 份, 各 2.5 g, 分别按上述测定方法测定, 结果芍药苷平均含量 1.1980 mg · g<sup>-1</sup>, RSD 为 1.4%。表明本品测定方法重复性良好。

**2.7 加样回收率试验** 精密称取已知含量的同一批 (批号: 071102, 含量: 1.1980 mg · g<sup>-1</sup>) 的样品 9 份, 每份约 1.25 g, 分别精密加入芍药苷对照品溶液 (0.1024 mol · mL<sup>-1</sup>) 各 4, 5, 6 mL, 按上述含量测定方法测定, 结果见表 1。

表 1 回收率试验结果

样品中含量 (mg)	加入量 (mg)	测得总量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1.5013	0.4096	1.9031	98.1		
1.4980	0.4096	1.8970	97.4		
1.4902	0.4096	1.8973	99.4		
1.5031	0.5120	2.0079	98.6		
1.5122	0.5120	2.0063	96.5	97.9	0.9
1.5072	0.5120	2.0054	97.3		
1.4950	0.6144	2.0977	98.1		
1.5168	0.6144	2.1165	97.6		
1.5036	0.6144	2.1069	98.2		

**2.8 样品含量测定** 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 测定。结果 3 批样品 (批号: 071101, 071102, 080101) 含量分别为 1.202, 1.198, 1.077 mg · g<sup>-1</sup>。



a. 对照品; b. 样品; c. 阴性样品; 1. 芍药苷。

图 1 追风透骨丸 HPLC 色谱图

### 3 讨论

鉴于本品为药材原粉加蜜, 用水泛丸, 选用了稀乙醇、水、50% 甲醇作溶剂提取, 结果含量分别为 1.20, 1.21, 1.0 mg · g<sup>-1</sup> 表明稀乙醇、水提取效果较理想, 但稀乙醇黏度相对较大, 微孔滤膜较难过滤, 故选用水作为提取溶剂。

用水作溶剂, 采用超声处理, 本实验比较了超声 40, 50, 60 min 不同时间芍药苷的提取率, 结果分别为 0.89, 1.20, 1.20 mg · g<sup>-1</sup>, 表明超声处理 50 min 已基本提取完全, 因此确定提取时间为 50 min。

将对照品芍药苷适量溶于甲醇中, 进行光谱扫描, 在波长 230 nm 处有最大吸收, 故选定 230 nm 为芍药苷的检测波长, 与药典赤芍项下检测波长一致。

芍药苷的含量测定方法已有多篇文献报道<sup>[3-14]</sup>, 本文建立的方法具有样品处理简单, 本品含量测定理论板数按芍药苷峰计算应不低于 3000 时, 样品分离良好, 重复性好, 为完善质量标准提供了方法和依据。

### 参考文献:

- [1] 卫生部药品标准 [S]. 中药成方制剂. 第十八册, 1998: 250.
- [2] 国家医药管理局中草药情报中心站. 植物药有效成分分析 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986: 797.
- [3] 李益福, 李践, 章建民. 中药丹皮木心药用价值研究芍药苷的定性鉴别和含量测定 [J]. 中草药, 1994, 25(11): 580.
- [4] 章崇仪, 曹解宁. 白芍中芍药苷提取溶剂的比较 [J]. 中成药, 1994, 16(11): 6.
- [5] 扬丽华. 薄层扫描法测定固金丸中芍药苷的含量 [J]. 中国中药杂志, 2000, 25(2): 122.
- [6] 黄海萍, 何芝义, 李瑞连. 高效液相色谱法测定筋骨丸中芍药苷的含量 [J]. 中国药学, 2003, 1(3): 154.
- [7] 何键, 王建国, 穆丽华. HPLC 测定迪可颗粒中芍药苷和粉防已碱的含量 [J]. 中成药, 2005, 27(1): 42.
- [8] 陈世虎, 陈志成. HPLC 测定保胎无忧片中芍药苷的含量 [J]. 中成药, 2005, 27(4): 470.
- [9] 贾金萍, 秦雪梅, 王光丽. 高效液相色谱法测定鞭芍胶囊中芍药苷的含量 [J]. 中国医院药学杂志, 2005, 25(2): 136.
- [10] 胜蓉, 宋英, 郑璇. HPLC 测定止雪消瘀胶囊中芍药苷的含量 [J]. 中国中医药科技, 2005, 12(1): 38.
- [11] 赵永德, 丁吕成, 贾善学. RP-HPLC 法测定胃肠舒片中芍药苷的含量 [J]. 中国药师, 2005, 8(12): 1007.
- [12] 孙景卫. RP-HPLC 法测定鹿茸生新胶囊中芍药苷的含量 [J]. 山东中医杂志, 2005, 24(7): 433.
- [13] 李虹, 胡静. 高效液相色谱法测定固本益肠胶囊中芍药苷的含量 [J]. 中国药事, 2007, 21(2): 738.
- [14] 陈宗良, 吴雪宏, 陶玉锋. HPLC 法测定胃舒宁颗粒中芍药苷的含量 [J]. 中国药品标准, 2007, 8(2): 75.