

HPLC法测定加味逍遥丸中芍药苷与甘草苷的含量

杜 蓉*,张孟佑(广州军区武汉总医院药剂科,武汉 430070)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)18-2571-02
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.18.44

摘要 目的:建立同时测定加味逍遥丸中芍药苷与甘草苷含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Hypersil-ODS C₁₈,流动相为乙腈-水(14:86, V/V),流速为 1.0 ml/min,检测波长为 230 nm,柱温为室温,进样量为 10 μl。结果:芍药苷、甘草苷质量浓度分别在 16.12~80.6、6.08~30.4 μg/ml 范围内与各自峰面积呈良好的线性关系(r 为 0.999 6、0.999 8);精密度、稳定性、重复性试验的 RSD<2.0%;平均加样回收率分别为 98.51%、98.08%,RSD 分别为 1.94%、1.29%($n=6$)。结论:该方法操作简单、准确度高,可用于测定加味逍遥丸中芍药苷与甘草苷的含量。

关键词 高效液相色谱法;加味逍遥丸;芍药苷;甘草苷

Content Determination of Paeoniflorin and Liquoritin in Jiawei Xiaoyao Pills by HPLC

DU Rong, ZHANG Meng-you (Dept. of Pharmacy, Wuhan General Hospital of Guangzhou Military Region, Wuhan 430070, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the HPLC method for the content determination of paeoniflorin and liquoritin in Jiawei xiaoyao pills. METHODS: It was performed on Hypersil-ODS C₁₈ with the mobile phase of acetonitrile-water (14:86, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min, the detection wavelength was 230 nm, the column temperature was room temperature and the volume was 10 μl. RESULTS: The linear range was 16.12-80.6 μg/ml for paeoniflorin ($r=0.999\ 6$) and 6.08-30.4 μg/ml for liquoritin ($r=0.999\ 8$); the RSDs of precision, repeatability and stability tests were all less than 2.0%; the average recovery was respectively 98.51% (RSD=1.94%, $n=6$) and 98.08% (RSD=1.29%, $n=6$). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reliable, and can be used for the content determination of paeoniflorin and liquoritin in Jiawei xiaoyao pills.

KEYWORDS HPLC; Jiawei xiaoyao pills; Paeoniflorin; Liquoritin

加味逍遥丸为非处方药,由白芍、甘草、栀子、柴胡、当归等9味药组成,收载于2010年版《中国药典》(一部),具有舒肝清热、健脾养血之功效。有文献^[1-3]报道了单独测定加味逍遥丸中芍药苷含量的方法,但未有同时测定芍药苷与甘草苷含量的报道。为了更好地控制加味逍遥丸的质量,笔者建立了采用高效液相色谱(HPLC)法同时测定加味逍遥丸中芍药苷与甘草苷含量的方法。

1 材料

LC-10ATvp HPLC 仪,包括紫外检测器(SPD-10AVvp)、N2000 色谱工作站(日本岛津公司); AB265-S/FACT 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

甘草苷对照品(批号:111610-201106)、芍药苷对照品(批号:110736-201035)均由中国食品药品检定研究院提供;加味逍遥丸(北京同仁堂科技发展股份有限公司,批号:2012080517、2012081611、2012091203、2012101101);乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为双蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Hypersil-ODS C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水(14:86, V/V); 流速: 1.0 ml/min; 柱温: 室温; 检测波长: 230 nm; 进样量: 10 μl。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 分别精密称取芍药苷对照品 20.15 mg、甘草苷对照品 7.6 mg,置于同一 25 ml 量瓶中,加 70% 乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备液。精密吸取上述对照品贮备液 2 ml,置于 25 ml 量瓶中,加 70% 乙醇稀释至刻度,摇匀,即得对照品溶液(每 1 ml 含芍药苷 64.48 μg、甘草苷 24.32 μg)。

2.2.2 供试品溶液 取加味逍遥丸适量,研细,取约 0.5 g,精密称定,置于 25 ml 量瓶中,加 70% 乙醇适量,超声(功率: 250 W,频率: 40 kHz)处理 30 min,放冷,加 70% 乙醇定容,摇匀,滤过,即得。

2.2.3 阴性对照溶液 按加味逍遥丸的处方和工艺制备不含芍药和甘草的阴性样品,再按“2.2.2”项下方法制备,即得阴性对照溶液。

2.3 专属性试验

分别取“2.2”项下对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 10 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图 1。由图 1 可见,理论板数按芍药苷峰计应不低于 3 000;供试品溶液色谱图中,芍药苷峰、甘草苷峰与其他成分峰可完全分离;阴性对照溶液色谱图中,在与芍药苷峰和甘草苷峰相同的保留时间处无杂质峰,表明阴性对照对测定无干扰。

2.4 线性关系考察

精密吸取“2.2.1”项下对照品贮备液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 ml,分别置于 10 ml 量瓶中,加 70% 乙醇稀释至刻度,摇匀,按“2.1”项下色谱条件进样 10 μl,记录峰面积。以质量浓度(x),

* 副主任药师。研究方向:医院药学。电话:027-87883347

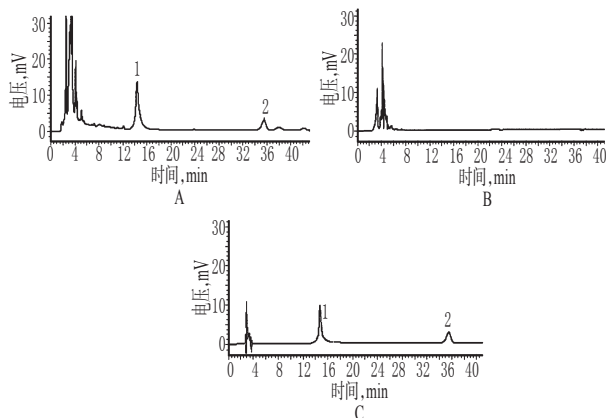


图1 高效液相色谱图

A.供试品溶液;B.阴性对照溶液;C.对照品溶液;1.芍药苷;2.甘草苷

Fig 1 HPLC chromatograms

A.sample solution; B.negative control solution; C.reference solution; 1. paeoniflorin; 2. liquiritin

$\mu\text{g/ml}$ 为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得芍药苷回归方程为 $y=6\ 893.3x+203\ 821(r=0.999\ 6)$ 、甘草苷回归方程为 $y=10\ 901x+103\ 452(r=0.999\ 8)$ 。结果表明,芍药苷、甘草苷质量浓度分别在 $16.12\sim 80.6$ 、 $6.08\sim 30.4\ \mu\text{g/ml}$ 范围内与各自峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液 $10\ \mu\text{l}$,按“2.1”项下色谱条件进样,重复5次,记录峰面积。结果,芍药苷和甘草苷峰面积的RSD分别为 1.12% 、 1.23% ,表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取同一供试品溶液(批号:2012080517)适量,分别于室温下放置0、2、4、6、8 h时按“2.1”项下色谱条件进样,记录峰面积。结果,芍药苷、甘草苷峰面积的RSD分别为 1.09% 、 1.52% ,表明供试品溶液在8 h内稳定性良好。

2.7 重复性试验

取同一批样品(批号:2012080517)适量,研细,取 $0.5\ \text{g}$,共6份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进样测定。结果,芍药苷、甘草苷含量的RSD分别为 1.15% 、 1.27% ,表明本方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

取已知含量的样品(批号:2012080517)适量,研细,取6份,每份约 $0.25\ \text{g}$,精密称定,置于 $25\ \text{ml}$ 量瓶中,分别精密加入“2.2.1”项下对照品贮备液 $1\ \text{ml}$,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进样,记录峰面积,计算加样回收率,结果详见表1。

2.9 样品含量测定

取4批样品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进样,按外标法以峰面积计算含量,结果详见表2。

3 讨论

3.1 检测波长的选择

笔者在 $210\sim 350\ \text{nm}$ 波长范围内分别对芍药苷和甘草苷对照品溶液进行紫外光谱扫描,结果发现,芍药苷在 $230\ \text{nm}$ 波长处有最大吸收,甘草苷在 $237\ \text{nm}$ 波长处有最大吸收。由于芍药苷在 $237\ \text{nm}$ 波长处的斜率较大,故选择 $230\ \text{nm}$ 作为本研

究的检测波长。

表1 加样回收率试验结果($n=6$)

待测成分	取样量, g	已知含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
芍药苷	0.251 3	0.814	0.806	1.611	98.86	98.51	1.94
	0.248 9	0.806	0.806	1.618	100.69		
	0.250 7	0.812	0.806	1.624	100.67		
	0.252 3	0.817	0.806	1.594	96.35		
	0.249 5	0.808	0.806	1.587	96.60		
	0.248 1	0.804	0.806	1.593	97.91		
	0.251 3	0.281	0.304	0.581	98.53		
	0.248 9	0.279	0.304	0.576	97.74		
甘草苷	0.250 7	0.281	0.304	0.578	97.77	98.08	1.29
	0.252 3	0.283	0.304	0.587	100.14		
	0.249 5	0.279	0.304	0.572	96.24		
	0.248 1	0.278	0.304	0.576	98.07		

表2 样品含量测定结果($n=3$)

Tab 2 Results of content determination($n=3$)

批号	芍药苷, mg/g	甘草苷, mg/g
2012080517	3.25	1.11
2012081611	3.24	1.12
2012091203	2.87	1.20
2012101101	2.53	1.06

3.2 流动相的选择

本研究比较了乙腈-水^[4]、乙腈-磷酸溶液^[5-6]、甲醇-水^[3]、甲醇- $0.05\ \text{mol/L}$ 磷酸氢二钠缓冲溶液^[7]等流动相系统,结果发现,选择乙腈-水($14:86, V/V$)为流动相时,待测物与杂质能完全分离,理论板数较高,分离效果较好。

3.3 提取方法的选择

笔者曾采用 95% 乙醇、 70% 乙醇、 50% 乙醇作为提取溶剂,分别超声处理20、30、40 min进行提取。结果发现,以 70% 乙醇为提取溶剂、超声处理30 min时效果最好。

综上所述,该方法操作简单、准确度高,可用于测定加味逍遥丸中芍药苷与甘草苷的含量。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:667.
- [2] 石勇强.加味逍遥丸的制备与质量控制[J].医学信息,2011,1(1):336.
- [3] 张世勤,胡爱萍,曹铁城.高效液相色谱法测定加味逍遥丸中芍药苷含量[J].中国中药杂志,1994,19(9):549.
- [4] 干国平,张莲萍,李秋怡,等.逍遥丸(浓缩丸)质量标准的研究[J].时珍国医国药,2006,17(8):1 493.
- [5] 严玉平,由会玲,李国川,等.芍药及不同炮制品在芍药甘草汤中芍药苷含量的差异研究[J].中国药房,2009,20(6):463.
- [6] 钱鑫,徐飞.高效液相色谱法测定加味逍遥丸中甘草酸[J].现代药物与临床,2013,28(2):194.
- [7] 张庆,沈美琼.HPLC法测定加味逍遥丸中芍药苷的含量[J].中国药师,2009,12(4):468.

(收稿日期:2014-10-27 修回日期:2015-04-14)

(编辑:陈 宏)