

# HPLC测定痛经丸中芍药苷的含量

赵彩云 (江苏省徐州药品检验所, 徐州, 221006)

**摘要:**目的 建立高效液相色谱法测定痛经丸中芍药苷的含量。方法 采用 Kromasil C<sub>18</sub>柱 (4.6 × 150 mm, 5 μm), 乙腈-0.1%磷酸溶液 (15: 85) 为流动相, 检测波长为 230 nm。结果 芍药苷在 0.02054 ~ 0.1027 μg · mL<sup>-1</sup> 间有良好的线性关系 (r = 0.999 8), 加样回收率为 99.4%, RSD 为 0.96% (n = 6)。结论 该方法操作简便, 结果准确, 重现性好, 可作为该制剂的定量分析方法。

**关键词:** 痛经丸; 芍药苷; 高效液相色谱法; 含量测定

## Determination of the Content of Paeoniflorin in Tongjing Pills by HPLC

ZHAO Cai-yun (Jiangsu Provincial Xuzhou Institute for Drug Control, Xuzhou 221006)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish an HPLC method for the determination of paeoniflorin in Tongjing Pills. **METHODS** Kromasil C<sub>18</sub> column (4.6 × 150 mm, 5 μm) was used, and acetonitrile-0.1% phosphoric acid (15: 85) as mobile phase, the detection wavelength was set at 230 nm. **RESULTS** Paeoniflorin had a good linear relationship at the range of 0.02054 ~ 0.1027 μg · mL<sup>-1</sup> (r = 0.999 8); The average recovery of paeoniflorin was 99.4% and RSD was 0.96% (n = 6). **CONCLUSION** This method is simple, accurate and reproducible. It can be used for the qualitative analysis.

**KEY WORDS:** Paeoniflorin; Tongjing Pills; HPLC; determination

痛经丸主要由川芎、白芍、淫羊藿、吴茱萸等组成, 是徐州市中医院中药复方制剂, 具有温经散寒、化瘀止痛的功效, 临床用于寒凝血滞、经来腹痛、月经不调, 颇有疗效。笔者运用高效液相色谱法对其白芍中的芍药苷进行了含量测定, 为该制剂质量控制提供快速准确的测定方法。

### 1 仪器与试剂

高效液相色谱仪: Waters 2695 泵、Waters 2996 检测器、Empower 色谱工作站

芍药苷对照品 (110736-200527, 中国药品生物制品检定所) (供含量测定用); 乙腈为色谱纯, 水为重蒸水, 其他试剂为分析纯。痛经丸样品 (批号 070213, 070228, 070315, 070417, 070528) 及空白对照均由徐州市中医院制剂室提供。

### 2 实验方法与结果

#### 2.1 色谱条件

色谱柱: Kromasil C<sub>18</sub>, (4.6 × 150 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1%磷酸溶液 (15: 85); 检测波长为 230 nm; 柱温: 30 °C; 流速: 1.0 mL · min<sup>-1</sup>; 进样量 10 μL, 理论板数按芍药

苷峰计算应不低于 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 10.27 mg 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为贮备液。精密量取 2 mL 置 10 mL 量瓶中加甲醇稀释至刻度, 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 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密量取甲醇 25 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理 (功率 250 W, 频率 33 kHz) 1 h, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.3 阴性溶液的制备 按处方比例制成不含白芍的空白样品。并按“2.2.2”项下方法制成阴性溶液。

#### 2.3 阴性对照实验

分别取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 10 μL 注入色谱仪中, 记录色谱图, 阴性对照溶液在芍药苷峰相应的保留时间处无干扰, 色谱图见图 1。

#### 2.4 线性关系的考察

作者简介: 赵彩云, 女, 副主任中药师 Tel: (0516) 85608573 E-mail: zcy893123@163.com

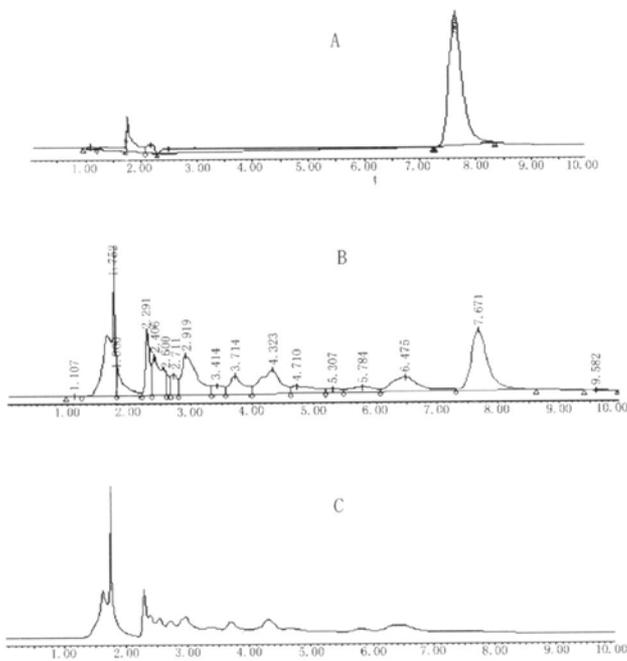


图 1 对照品、供试品和阴性对照溶液的 HPLC 图谱

A - 芍药苷; B - 供试品; C - 阴性对照

Fig 1 HPLC chromatograms of standard, sample and blank sample

A - standard of paeoniflorin; B - sample; C - blank sample

表 1 加样回收率试验结果 ( $n=6$ )

Tab1 Results of recovery ( $n=6$ )

编号	样品重量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得值 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD%
1	0.995 8	1.025 7	0.616 2	1.637 6	99.3		
2	1.049 6	1.081 1	0.616 2	1.693 7	99.4		
3	0.985 4	1.015 0	0.718 9	1.721 2	98.2	99.4	0.96
4	0.983 3	1.012 8	0.821 6	1.822 9	98.6		
5	0.956 9	0.985 6	0.924 3	1.911 8	100.2		
6	1.012 0	1.042 4	1.027 0	2.077 9	100.8		

### 2.9 供试品中芍药苷的含量测定

分别取五批痛经丸, 每批两份, 按“2.2.2”项下制备供试品溶液。取供试品溶液 10  $\mu$ L 进样测定, 结果见表 2。

表 2 供试品中芍药苷的含量 ( $n=4$ )

Tab 2 Results of sample determination ( $n=4$ )

批号	含量 /mg $\cdot$ g <sup>-1</sup>	平均含量 /mg $\cdot$ g <sup>-1</sup>
070213	1.03	1.03
070228	0.96	0.98
070315	1.24	1.22
070417	1.18	1.15
070526	1.20	1.18

分别精密吸取贮备液 1、2、3、4、5 mL 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度。各精密吸取 10  $\mu$ L, 分别注入液相色谱仪, 测定, 测得峰面积。用峰面积与进样浓度进行直线回归处理。得回归方程  $y=1.47e+007x+1.78e+004$ ; 相关系数  $r=0.9998$  ( $n=6$ )。表明芍药苷浓度在 0.020 54 ~ 0.102 7  $\mu$ g  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> 之间与峰面积呈线性关系。

### 2.5 精密度试验

精密吸取对照品溶液 10  $\mu$ L, 连续进样 6 次, 测定峰面积, 结果 RSD 值为 0.98%。结果表明仪器精密度良好。

### 2.6 稳定性试验

取同一供试品溶液, 分别在 0、2、4、6、8、12 h 进样, 记录峰面积, 芍药苷 RSD 为 1.63%, 表明供试品溶液在 12 h 内基本稳定。

### 2.7 重复性试验

精密称取同一批供试品 (070213) 6 份, 按供试品溶液的制备方法制备, 并按上述色谱条件测试, 结果芍药苷含量 RSD 为 0.95% ( $n=6$ )。

### 2.8 加样回收率试验

取已知芍药苷含量的样品 (070213) 6 份, 精密称定, 分别精密量取芍药苷贮备液 (浓度 0.205 4 mg  $\cdot$  mL<sup>-1</sup>) 3.0、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0 mL, 分别置入 25 mL 量瓶中, 加甲醇适量, 超声 1 h, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为进样溶液。依法测定, 计算回收率。结果见表 1。

## 3 讨论

白芍为该复方制剂的主要药味之一, 复方中比例较大, 因此, 选择芍药苷作为含量测定指标成分, 对该药的质量控制有其实际意义。作者曾选用甲醇-水, 及其他不同比例的乙腈-磷酸水溶液, 均未得到满意的效果。本实验选取的流动相可使样品中的芍药苷同杂质得到有效分离。

### 参考文献

- [1] Ch. P (2005) Vol I (中国药典 2005 年版, 一部) [S]. 2005: 68.

收稿日期: 2007-07-10