

HPLC 法测定血复生片中芍药苷的含量

白雪媛, 常桂娟, 杨吉平, 赵大庆(长春中医药大学, 吉林 长春 130021)

摘要: **目的** 建立血复生片中芍药苷含量的测定方法。**方法** 采用高效液相色谱法测定。色谱柱: 十八烷基硅烷键合硅胶柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.1%磷酸溶液(21:79), 检测波长: 230 nm, 柱温: 30 ℃, 流速: 1.0 mL·min⁻¹。**结果** 芍药苷进样量在 0.066~0.396 μg 范围内, 进样量与峰面积呈良好的线性关系($r=0.9994$); 平均加样回收率为 98.72%, RSD 为 1.88% ($n=6$)。**结论** 该方法操作简便易行, 专属性强, 准确可靠, 可用于血复生片的质量控制。

关键词: 血复生片; 芍药苷; 含量测定; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)02-0216-03

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.02.026

Determination of Paeoniflorin in Xuefusheng Tablets with HPLC

BAI Xueyuan, CHANG Guijuan, YANG Jiping, ZHAO Daqing (Changchun University of Traditional Chinese Medicine, Changchun 130117 Jilin, China)

Abstract: **Objective** To establish a method for the determination of paeoniflorin in Xuefusheng Tablets. **Methods** HPLC method was carried out on a column of octadecylsilane chemically bonded silica(4.6 mm×250 mm, 5 μm) with the mobile phase of methanol -0.1 % phosphoric acid solution(21 : 79). Detection wavelength was set at 230 nm, and the column temperature was 30 ℃. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. **Result** The injection volume of paeoniflorin and peak area showed a good linear relationship($r=0.9994$) in the range of 0.066~0.396 μg. The average recovery was 98.72 %, and RSD was 1.88 % ($n=6$). **Conclusion** The method is simple, specific, accurate and reliable, can be used for the quality control of the Xuefusheng Tablets.

Keywords: Xuefusheng Tablets; Paeoniflorin; Content determination; HPLC

血复生片由黄芪(炙)、当归、白芍、熟地黄、川芎、女贞子、墨旱莲、茯苓、山药、天花粉、牡丹皮、泽泻、川牛膝、甘草、大黄(酒炙)、猪脾粉共 16 味中药组成, 具有益气养血、滋阴凉血、化瘀解毒的功效。用于气血两虚、阴虚津亏、自汗盗汗、烦躁失眠, 出血紫斑等恶性贫血, 癌症放、化疗后的血象异常, 尤其是对白细胞减少症有明显的升高或调整血象的作用。血复生片处方来源于《中华人民共和国卫生部药品标准》(中成药第十四册) 收录的血复生片, 标准编号为 WS3-B-2688-97。本文建立了血复生片中芍药苷含量的 HPLC 测定方法, 旨在控制制剂质量, 现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 1100 型高效液相色谱仪, 包括 G1311A 泵, G1315B 检测器, G1322A 在线脱气机, Chem-stations 数据处理系统, 美国安捷伦公司; KQ-250 型超声波处理器, 苏州江东精密仪器有限公司。

1.2 试剂 芍药苷对照品, 中国药品生物制品检定所, 批号: 110736-201337; 血复生片, 吉林省精鑫药业集团有限公司, 批号分别为: 20120401, 20120402, 20120403, 20120404, 20120405; 血复生片阴性样品(自制); 甲醇为色谱纯, 水为纯化水, 其他试剂均为分析纯。

收稿日期: 2013-11-04

作者简介: 白雪媛, 女, 助理研究员, 研究方向: 中药有效成分及产品开发。Email: baixy1212@163.com。通讯作者: 赵大庆, 研究员, 研究方向: 中药有效成分研究及产品开发。

基金项目: 重大新药创制科技重大专项, 创新药物孵化(吉林)基地建设(2011ZX09401-305)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱：十八烷基硅烷键合硅胶柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm)；流动相：甲醇-0.1 %磷酸溶液 (21 : 79)；检测波长：230 nm；流速：1.0 mL·min⁻¹；柱温：30 ℃；进样量：10 μL。理论板数按芍药苷峰面积计算应不低于 3000。

2.2 溶液的准备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取芍药苷对照品适量，加甲醇制成每 1 mL 含 30 μg 的溶液，即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品 10 片，去除包衣，研细，精密量取 0.6 g，置具塞锥形瓶中，加乙醚 40 mL，超声处理 10 min，放冷，滤过，药渣挥去乙醚

后，精密加入水饱和正丁醇溶液 25 mL，超声处理 30 min，放冷，滤过，滤液蒸干，用适量甲醇溶解并转移至 10 mL 量瓶中，加甲醇至刻度，摇匀，用微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过，即得。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 取不含白芍和牡丹皮的处方，按制备工艺制成缺白芍和牡丹皮的阴性样品，按照 2.2.2 项下方法制成阴性对照溶液。

2.2.4 专属性考察 精密吸取供试品溶液、对照品溶液和阴性对照溶液各 10 μL 注入液相色谱仪中，按 2.1 项下色谱条件进样测定。结果表明，阴性对照溶液在芍药苷对照品相应的保留时间附近无干扰峰出现，说明本法具有良好的专属性，色谱图见图 1。

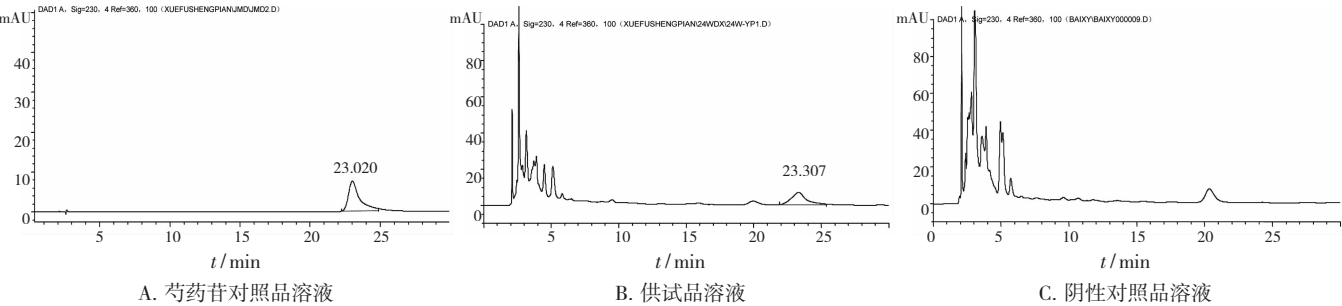


图 1 供试品溶液、对照品溶液和阴性对照品溶液高效液相色谱图

Figure 1 HPLC Chromatograms

2.3 线性关系考察 精密称取芍药苷对照品适量，按对照品溶液的制备方法制成浓度分别为 0.0066, 0.0132, 0.0198, 0.0264, 0.033, 0.0396 mg·mL⁻¹ 的溶液，分别精密吸取上述各对照品溶液 10 μL，注入液相色谱仪测定。以进样量为横坐标，峰面积值为纵坐标作图，回归方程为：Y=2107.3X-44.8, r= 0.9994。结果表明，芍药苷进样量在 0.066 ~ 0.396 μg 范围内，进样量与峰面积呈良好的线性关系。

2.4 精密度试验 取同一芍药苷对照品溶液，重复进样 6 次，芍药苷积分值的 RSD 为 0.98 %，表明芍药苷的精密度良好。

2.5 稳定性试验 取同一供试品溶液 (批号：20120401) 适量，分别放置 0, 2, 4, 8, 12 h，按照 2.1 项下色谱条件进样测定，记录峰面积。结果，芍药苷峰面积的 RSD 为 2.04 % (n=5)，表明供试品溶液至少在 12 h 内稳定性良好。

2.6 重复性试验 取同一批血复生片 (批号：20120401) 适量，共 6 份，精密称定，分别按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液，按照 2.1 项下色谱条件进样测定，计算芍药苷的含量。结果，样品中芍药苷平均含量为 0.0374 %，RSD 为 1.76 % (n=6)，表明本

方法重复性良好。

2.7 加样回收率试验 取本品约 0.3 g (批号：20120401，芍药苷含量为 0.0374 %)，精密称定，按照 2.2.2 项下方法操作，制备供试品溶液，测定芍药苷的含量，计算回收率，测定。结果见表 1。

表1 芍药苷加样回收率试验结果

Table 1 The Recovery Results of Paeoniflorin

序号	取样量 /g	样品中芍药苷的量 /mg	对照品加入量 /mg	实测值 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	0.33770	0.1263	0.12	0.243	97.25	98.72	1.88
2	0.37032	0.1385	0.12	0.2567	98.5		
3	0.38476	0.1439	0.12	0.2625	98.83		
4	0.37273	0.1394	0.12	0.2549	96.25		
5	0.41765	0.1562	0.12	0.2778	101.33		
6	0.40428	0.1512	0.12	0.2714	100.17		

2.8 样品含量测定 取 5 批血复生片内容物各适量，分别按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液，按照 2.1 项下色谱条件进样测定，计算芍药苷的含量，结果见表 2。

3 讨论

关于血复生片质量研究的文献报道^[1-2]，主要是

表 2 血复生片中芍药苷的含量测定结果(n=6)
Table 2 The Assay Results of Paeoniflorin in the Tables of Xue-FuSheng

批号	芍药苷的含量 / %	每片含芍药苷量 / μg
20120401	0.0374	112.2
20120402	0.0386	115.8
20120403	0.0357	107.1
20120404	0.0370	111.0
20120405	0.0391	117.3
平均值	0.0376	112.8

针对君药黄芪的定性和定量分析。血复生片的药味较多，因此，本文通过检测芍药苷的含量对制剂中的白芍和牡丹皮进行定量分析，是对血复生片质量研究的必要补充。流动相的选择^[3-5]，因目标成分芍药苷在酸性环境下稳定（pH=2~6），在碱性环境下不稳定。分别考查了乙腈-水、乙腈-酸水、乙腈-盐水、甲醇-水、甲醇-酸水、甲醇-盐水等不同流动相及不同比例，最后确定甲醇-0.1 %磷酸溶液

(21 : 79)为流动相，分析图谱的分离度、拖尾因子及对称性等条件均达到《中华人民共和国药典》(2005版)中的要求。经方法学验证，该方法专属性强，空白对照无干扰，可以作为血复生片中含量测定指标，能够达到控制血复生片质量的目的。

参考文献：

[1] 芦美霞, 王璐, 袁浩, 等. HPLC-ELSD 测定血复生片中黄芪甲苷的含量[J]. 中成药, 2008, 30(5): 9-11.
[2] 闫便杰, 牛安琦, 李彤晖, 等. 血复生片质量标准的研究[J]. 西北药学杂志, 2005, 20(4): 155-156.
[3] 刘浩. 反相高效液相色谱法测定白芍提取物中芍药苷的含量[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(9): 2392-2393.
[4] 李越峰, 杨武亮, 沈菲, 等. 高效液相色谱测定白芍中芍药苷的含量[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(2): 438-439.
[5] 任建生, 马海泉, 蔡大伟. 芍药苷在复方中的定量分析研究进展[J]. 时珍国医国药, 2001, 12(8): 746-749.

(编辑：宋威)

HPLC 法测定灵芝孢子油中 1，2- 二油酸 -3- 棕榈酸甘油酯含量

万明珠, 王腾华, 张丽媛, 任灵芝, 谭 敏, 高幼衡(广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006)

摘要：目的 建立高效液相色谱法(HPLC)测定灵芝孢子油中 1，2- 二油酸 -3- 棕榈酸甘油酯含量的方法。方法 采用 HPLC 法，色谱柱：Diamonsil C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)柱，流动相：乙腈-异丙醇(体积比为 51 : 49)，流速：1.0 mL·min⁻¹，ELSD 漂移管温度：40 ℃，载气流速：2.4 L·min⁻¹。结果 1，2- 二油酸 -3- 棕榈酸甘油酯在 2.7 ~ 27.0 μg 范围内线性关系良好(r=0.9996)，平均回收率为 99.3 %，RSD 值为 2.3 %。结论 该方法简便、准确、分离度好，可用于灵芝孢子油中 1，2- 二油酸 -3- 棕榈酸甘油酯的含量测定。

关键词：灵芝孢子油；1，2- 二油酸 -3- 棕榈酸甘油酯；含量测定；高效液相色谱法
中图分类号：R284.1 文献标志码：A 文章编号：1003-9783(2014)02-0218-04
doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.02.027

Determination of 1, 2-Dioleoyl-3-palmitoyl glycerol in *Ganoderma lucidum* Spore Oil by HPLC
WAN Mingzhu, WANG Tenghua, ZHANG Liyuan, REN Lingzhi, TAN min, GAO Youheng(School of Chinese Meteria Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Gangzhou 510006 Guangdong, China)
Abstract: Objective To establish a method for the content determination of 1, 2-dioleoyl-3-palmitoyl glycerol in

收稿日期：2013-09-29
作者简介：万明珠，女，硕士研究生，研究方向：中药活性成分及质量标准研究。Email: wanmingzhuabc@126.com。通信作者：高幼衡，教授，博士生导师，研究方向：中药及天然药物活性成分的研究。Email: gaoyouheng@gzucm.edu.cn。