

HPLC 法测定妇乐颗粒中丹皮酚

黄玉兰, 李镇涛, 吕 谦

四川省泸州市食品药品检验所, 四川 泸州 646000

摘 要: 目的 建立妇乐颗粒中丹皮酚的 HPLC 测定方法。方法 采用超声提取-高效液相色谱法, Agilent 色谱分析柱 XDB-C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm), 以甲醇-水-磷酸 (350:150:1) 为流动相, 体积流量为 1.0 mL/min, 检测波长为 274 nm, 外标法计算。结果 丹皮酚在 0.387~4.641 μg/mL 线性关系良好 ($r=0.999\ 6$), 样品平均回收率为 98.7%, RSD 为 0.56%。结论 该方法测定妇乐颗粒中丹皮酚具有快速、简便、灵敏、重现性好等优点。

关键词: 妇乐颗粒; 丹皮酚; 超声提取; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2011)04-0316-03

Determination of paeonol in Fule Granula by HPLC

HUANG Yu-lan, LI Zhen-tao, LV Qian

Luzhou Institute for Food and Drug Control in Sichuan Province, Luzhou 646000, China

Abstract: Objective To establish a method for determination of paeonol in Fule Granula by HPLC. **Methods** Ultrasonic extraction and HPLC were used. Separation was performed on an Agilent XDB-C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm) column of HPLC. The mobile phase consisted of methanol-water-phosphoric acid (350:150:1). The flow rate was 1.0 mL/min and at a detection wavelength of 274 nm. The determination was a external standard method. **Results** The linear range of methods was 0.387—4.641 μg/mL, $r=0.999\ 6$. The average recovery was 98.7% with RSD 0.56%. **Conclusion** The method is fast, simple, sensitive, and repeatability for determination of paeonol in Fule Granula.

Key words: Fule Granula; paeonol; ultrasonic extraction; HPLC

妇乐颗粒是已批准上市的中成药, 收载于《中国药典》2010 年版一部, 用于治疗瘀热蕴结所致的带下病, 症见带下量多、色黄、少腹疼痛; 慢性盆腔炎见上述症候者。牡丹皮为其主药之一, 具有活血散瘀、通经止痛的功效^[1-3]。丹皮酚是牡丹皮中的主要有效成分之一^[4-5], 具有抗炎、降压以及对中枢神经系统作用^[6-8]。因此以丹皮酚的量作为衡量妇乐颗粒品质优劣的一项重要指标。本实验采用超声提取-高效液相色谱法测定妇乐颗粒中丹皮酚, 该法简便、快捷, 结果准确、可靠。

1 仪器与试剂

Agilent 1200 高效液相色谱仪, 包括 Agilent G1314B VWB 可见光/紫外检测器。丹皮酚对照品由中国药品生物制品检定所提供 (批号 110708-200505), 重蒸馏水, 甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。妇乐颗粒由四川宝光药业股份有

限公司提供, 批号 1009012、100914、100922、100923、100924、100931。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

Agilent 色谱分析柱 XDB-C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 甲醇-水-磷酸 (350:150:1) 为流动相; 柱温 35 ℃, 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 274 nm。理论板数按丹皮酚峰计算应不低于 1 500, 分离度大于 1.5。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取丹皮酚对照品约 15 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇溶液溶解, 稀释至刻度。精密吸取 1 mL 于 200 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇溶液稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 供试品溶液的制备

取妇乐颗粒约 0.5 g, 精密加入 50% 甲醇溶液

50 mL，精密称定，超声提取 45 min（功率 250 W，频率 33 kHz），精密称定质量，用 50%甲醇溶液补足减失的质量，摇匀，滤过，即得。

2.4 阴性样品溶液的制备

按妇乐颗粒处方组成取不含牡丹皮的药材，制成阴性样品，按供试品溶液的制备方法制备阴性样品溶液。

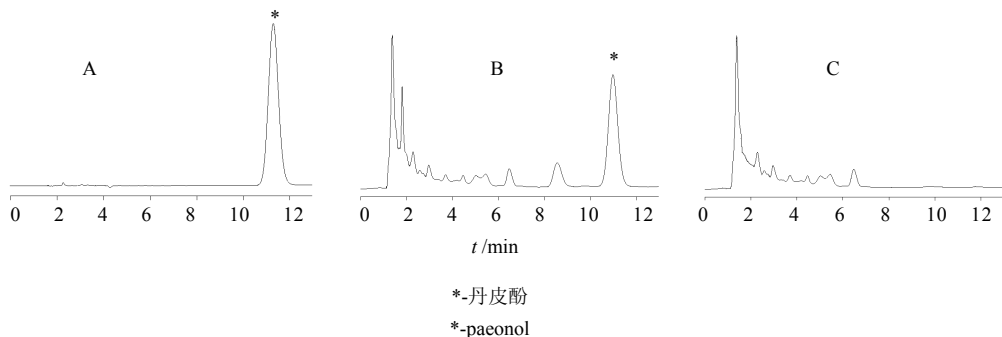


图 1 丹皮酚对照品 (A)、妇乐颗粒 (B) 和阴性样品 (C) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatogram of paeonol reference substance (A), Fule Granula (B), and negative sample (C)

2.6 线性关系考察

精密称取丹皮酚对照品 15.47 mg 于 100 mL 量瓶中，用 50%甲醇溶液溶解，并稀释至刻度作为储备液。然后分别精密吸取储备液 0.25、0.5、1.0、1.5、2.5、3.0 mL 于 100 mL 量瓶中，加入 50%甲醇溶液稀释至刻度，摇匀，即得。分别吸取上述各溶液 10 μ L 注入高效液相色谱仪，按上述色谱条件记录色谱图。以丹皮酚质量浓度为横坐标，峰面积为纵坐标进行线性回归，得回归方程 $Y=637.45 X+574.75$ ， $r=0.999 6$ ；线性范围为 0.387~4.641 μ g/mL。

2.7 精密度试验

取妇乐颗粒（批号 1009012）制备供试品溶液，重复进样 6 次，测定丹皮酚峰面积，计算得其 RSD 为 0.33%。

2.8 重现性试验

取妇乐颗粒（批号 1009012）平行制备 6 份供试品溶液，测定，计算丹皮酚质量分数的 RSD 为 0.75%。

2.9 稳定性试验

取妇乐颗粒（批号 1009012）制备供试品溶液。在 1、2、4、6、8、12、16 h 测定丹皮酚的质量浓度，计算得其 RSD 为 0.3%。结果表明，供试品溶液在 16 h 内稳定。

2.10 加样回收率试验

取妇乐颗粒（批号 1009012）5 份，每份 0.5 g，

2.5 专属性试验

分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性样品溶液各 10 μ L、按上述色谱条件进样，记录色谱图，见图 1。在对照品主峰处，供试品溶液具有相同保留时间的色谱峰，阴性溶液则无此峰，说明样品中其他成分对丹皮酚的测定无干扰。

分别加入 0.154 mg/mL 丹皮酚对照品储备液 0.25 mL，制备供试品溶液，测定，结果平均回收率为 98.7%，RSD 为 0.56%。

2.11 样品测定

取 6 批妇乐颗粒（批号 1009012、100914、100922、100923、100924、100931），每批次取样 2 份，每份 0.5 g，制备供试品溶液，进样测定，用外标法以峰面积计算丹皮酚的质量分数，结果见表 1。

表 1 妇乐颗粒中丹皮酚的测定结果 ($n=2$)

Table 1 Determination of paeonol in Fule Granula ($n=2$)

批 号	丹皮酚/(mg·g ⁻¹)
1009012	0.10
100914	0.11
100922	0.10
100923	0.11
100924	0.10
100931	0.11

3 讨论

检测波长的选择：将丹皮酚对照品溶解于 50% 甲醇溶液中，用紫外分光光度计在 200~400 nm 进行扫描，结果显示丹皮酚的最大吸收波长为 274 nm，故选择 274 nm 为检测波长。

由于妇乐颗粒是复方制剂，丹皮酚的溶解度和丹皮酚对照品的溶解度有差别，样品取样量在

0.126 7~1.018 8 g (50 mL) 线性良好, 故将样品取样量定在 0.5 g (50 mL)。

由于丹皮酚沸点低, 故超声提取时间不宜过长, 定为 45 min。采用 50%甲醇溶液和 50%乙醇溶液作为样品溶解液, 从记录的色谱图来看, 采用 50%乙醇溶液作为样品溶解液的分离度较 50%甲醇溶液的差, 故选用 50%甲醇溶液作为样品溶解液。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 陈士林, 林余霖. 中国药材图鉴: 中药材及混伪品鉴别 [M]. 北京: 中医古籍出版社, 2008: 363-365.
- [3] 徐亚香, 师海波. 妇乐颗粒对去卵巢拟阴虚内热大鼠的影响 [J]. 中草药, 2004, 35(10): 1161-1163.
- [4] 肖培根. 新编中药志 [M]. 第 3 卷. 北京: 化学工业出版社, 2002: 601-606.
- [5] 李方军. 牡丹皮化学成分及药理作用研究进展 [J]. 安徽医药, 2004, 8(1): 9-10.
- [6] 李群爱. 牡丹皮的药理研究 [J]. 中草药, 1988, 19(6): 36.
- [7] 王爱宝, 唐希灿. 丹皮酚磺酸钠的镇痛、解热、消炎和毒性研究 [J]. 中草药, 1983, 14(10): 26.
- [8] 闫 军, 王晓东, 唐文照, 等. 丹皮酚脂质体凝胶的质量控制研究 [J]. 现代药物与临床, 2011, 26(2): 139-141.

Chinese Herbal Medicines (CHM) 征订征稿启事

我国第一份中药专业的英文期刊 *Chinese Herbal Medicines* (CHM) (中草药杂志英文版) 已于 2009 年 10 月正式创刊, 由天津药物研究院和中国医学科学院药用植物研究所主办, 天津中草药杂志社出版。中国工程院院士、中国医学科学院药用植物研究所名誉所长肖培根教授担任主编; 中国工程院院士、天津药物研究院刘昌孝研究员, 天津药物研究院院长汤立达研究员, 中国医学科学院药用植物研究所所长陈士林研究员共同担任副主编; 天津药物研究院医药信息中心主任、《中草药》杂志执行主编陈常青研究员担任编辑部主任。

办刊宗旨 以高起点、国际化为特点, 继承和发扬祖国医药学遗产, 报道和反映中草药研究最新进展, 宣扬我国中草药的传统特色, 加强与世界各国在传统药物研究的经验交流, 在中医和西医、传统与现代、东方与西方之间架起一座理解和沟通的桥梁, 促进中药现代化、国际化。

主要栏目 综述与述评、论著、简报、文摘、信息和国际动态、人物介绍、来信、书评等栏目。

读者对象 国内外从事中医药研究、管理、监督、检验和临床的专业技术人员。

CHM 邀请相关领域的院士和国内外知名专家加盟, 组建一支国际化、高水平、精干的编委会队伍 (第一届编辑委员会由 49 位专家组成, 其中院士 10 名, 国外编委 19 名)。吸引国内外高质量的稿件, 提高期刊的学术质量; 坚持按照国际标准编排, 加强刊物规范化和标准化, 充分利用计算机、网络技术和英语, 加强与国际知名科技期刊的交流合作; 充分发挥中医药特色, 争取在较短时间内进入国际最著名的检索系统——美国科学引文索引 (SCI), 把 CHM 办成国际知名期刊之一。

欢迎广大作者踊跃投稿! 欢迎广大读者积极订阅!

Chinese Herbal Medicines 编辑部

天津编辑部

地址: 天津市南开区鞍山西道 308 号

邮编: 300193

E-mail: chm@tiprpress.com

Tel: 022-27474913

Fax: 022-23006821

Website: www.tjipr.com (在线投稿)

北京编辑部

地址: 北京市海淀区马连洼北路 151 号

邮编: 100193

E-mail: bjchm@tiprpress.com

Tel: 010-62818235

Fax: 010-62894462

Website: www.tjipr.com (在线投稿)