

量,超声处理(功率 250 W,频率 50 kHz)25 min,放冷,再称定质量,用 75%甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.4 阴性对照溶液的制备:取缺丹参药材的处方量药材,参照制剂工艺过程制备阴性样品,按照供试品溶液的制备操作,即得。

2.5 线性关系考察:取 0.154 mg/mL 丹酚酸 B 对照品溶液,分别进样 2、5、8、10、15、20 μL ,测定丹酚酸 B 的峰面积值。以峰面积平均值为纵坐标,质量浓度为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $Y=144\ 297\ X-828.22$, $r=0.999\ 9$,表明丹酚酸 B 在 0.308~3.08 μg 线性关系良好。

2.6 精密度试验:称取批号 5002001 心可舒胶囊粉末 1 g,制备供试品溶液,精密吸取供试品溶液 10 μL ,重复进样 6 次,进样测定丹酚酸 B 峰面积,结果其 RSD 为 0.41%。

2.7 重现性试验:称取批号 5002001 心可舒胶囊和批号 051014 心可舒片粉末各 6 份,每份 1 g,精密称定,制备供试品溶液,进样 10 μL 测定,每份两次,以峰面积平均值计算质量分数,结果心可舒胶囊和心可舒片中丹酚酸 B 质量分数的 RSD 分别为 1.02%、0.98%。

2.8 稳定性试验:称取批号 5002001 心可舒胶囊粉末 1 g,制备供试品溶液,精密吸取供试品溶液 10 μL ,分别在 0、2、4、6、8、16、24 h 进样测定丹酚酸 B 峰面积,计算。结果其 RSD 为 0.57%。表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.9 回收率试验:取批号 5002001 的心可舒胶囊粉末约 0.5 g(含丹酚酸 B 1.6 mg)共 6 份,精密称定。

分别按相当于样品中丹酚酸 B 质量的 80%、100%、120%的质量加入对照品,制备供试品溶液,进样测定,计算回收率。结果丹酚酸 B 的平均回收率为 99.48%,RSD 为 1.24%。

2.10 样品的测定:分别称取心可舒胶囊和心可舒片粉末约 1 g,精密称定,制备供试品溶液,精密吸取 10 μL 进样,测定峰面积,以外标法计算,结果见表 1。

表 1 心可舒制剂中丹酚酸 B 的测定结果($n=3$)

Table 1 Determination of salvianolic acid B in Xinkeshu preparations ($n=3$)

制 剂	批 号	丹酚酸 B/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
心可舒胶囊	5002001	3.23
	5003014	3.46
心可舒片	051014	9.07
	060434	9.57
	060534	9.23

3 讨论

在进行色谱条件选择过程中,分别考察了流动相甲醇-乙腈-甲酸-水(30:10:1:59)、乙腈-0.1%磷酸(24:76))和不同色谱柱 Hypersil ODS2 柱、Waters Symmetry 柱、Shimadzu Shim-pack Vp-ODS 柱对分离效果的影响。结果以流动相乙腈-0.1%磷酸和 Shimadzu Shim-pack Vp-ODS 色谱柱的分离效果较好。

《中国药典》2005 年版一部丹参药材项下选择 75%甲醇为提取溶剂。由于丹酚酸 B 对热不稳定,故采用超声提取,同时辅以循环水降温的方法,考察不同的提取时间(15、25、35、45 min)。结果表明,超声 25 min 已能将样品中的丹酚酸 B 提取完全,因此选择 75%甲醇为提取溶剂,超声提取 25 min。

炮制时间对酒白芍中芍药苷的影响

徐菲拉¹, 石森林², 何军民³

(1. 金华市中心医院,浙江 金华 321000; 2. 浙江中医药大学,浙江 杭州 310053;

3. 东阳市红十字会医院,浙江 东阳 322100)

白芍为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根。具平肝止痛、养血调经、敛阴止汗功效,其临床常用饮片有生白芍、炒白芍、酒白芍 3 种^[1]。白芍的主要成分为芍药苷,因此芍药苷是评价白芍质量的基本指标。本实验以芍药苷为指标,考察

炮制时间对酒白芍质量的影响,这对改进白芍炮制方法,提高饮片质量提供实验依据。

1 材料与仪器

高效液相色谱仪 Agilent1100、检测器 UVD,美国 Agilent 公司;PL5124 型纯水机,美国 PALL 公

司;CQ250 型超声波清洗器,上海超声波仪器厂;AB—204—N 电子天平,梅特勒-托利多公司。

芍药苷对照品,批号 0736-200117(中国药品生物制品检定所);甲醇为色谱纯;其他试剂均为分析纯。白芍购于浙江中医药大学实验药厂,由金华大学医学院罗国海副教授鉴定。

2 方法与结果

2.1 酒白芍炮制品的制备:取净白芍片适量,平均分成 5 份,按《中国药典》2005 年版一部附录ⅡD 制备酒白芍;照《中国药典》2005 年版一部附录ⅡD 法分别炒制 5、7.5、10、12.5、15 min,至微黄色即得。

2.2 色谱条件:色谱柱为 Zorbax XDB-C₁₈(150 mm×3.9 mm,5 μm);流动相:甲醇-水-磷酸(35:65:0.1);检测波长:230 nm;柱温:室温;体积流量:0.8 mL/min。理论板数按芍药苷峰计算,不低于 3 500。

2.3 溶液的配制

2.3.1 供试品溶液的制备:取酒白芍饮片粉碎,过 60 目筛,60℃干燥至恒重后,精密称取 0.5 g 置 25 mL 量瓶中,加 50%乙醇约 20 mL,浸泡 4 h,超声处理 30 min,放冷,加 50%乙醇至刻度,摇匀,溶液离心 15 min(3 000 r/min),上清液过膜(0.45 μm);取滤液 0.5 mL 置 2 mL 量瓶中,加流动相至刻度,摇匀,即得供试品溶液。

2.3.2 对照品溶液的制备:芍药苷对照品真空干燥 24 h 后,取约 17 mg 对照品,精密称定,置于 10 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,密塞,摇匀,即得对照品储备液。精密吸取此对照品储备液 40 μL 于 10 mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,密塞,摇匀,即得对照品溶液。

2.4 系统适用性试验:该色谱条件下对照品溶液、供试品溶液的色谱图见图 1,可知供试品溶液中其他成分对芍药苷的测定没有影响。

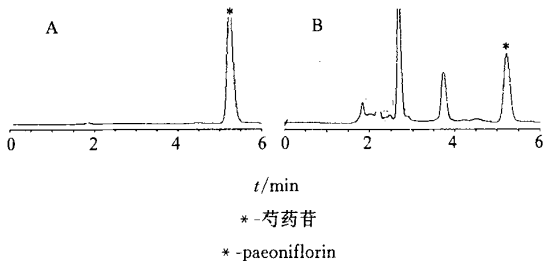


图 1 芍药苷对照品(A)和芍药炮制品(B)的 HPLC 图谱
Fig. 1 HPLC Chromatograms of paeoniflorin reference substance (A) and pocessed Radix Paeoniae Alba (B)

2.5 标准曲线的制备:分别精密吸取芍药苷对照品储备液 20、40、80、160、240、320、400 μL 置 10 mL 量瓶中,流动相定容,摇匀,进样 20 μL,测定芍药苷峰面积。以芍药苷峰面积为纵坐标,进样量为横坐标拟合标准曲线,得回归方程 $Y=1\,551\,821\,X$, $r=0.999\,8$,结果表明芍药苷在 0.067 9~1.358 μg 与其峰面积有良好的线性关系。

2.6 精密度试验:精密吸取芍药苷对照品溶液 20 μL,连续进样测定 6 次,记录芍药苷峰面积,结果峰面积 RSD 为 0.39%。

2.7 稳定性试验:精密吸取同一供试品溶液,分别在 0、0.5、1、2、3、4、6、8、24 h 进样 20 μL 测定,结果芍药苷峰面积 RSD 为 1.14%。

2.8 重现性试验:分别准确称取同一批生白芍 6 份,制备供试品溶液,每份重复 3 次进样 20 μL,结果样品中芍药苷质量分数 RSD 为 2.96%。

2.9 回收率试验:精密取含芍药苷 1.08% 的白芍约 3.0 g,共 6 份,分别加入精密测定的芍药苷对照品约 3.0 mg,制备供试品溶液,按上述色谱条件测定,结果回收率为 97.12%,RSD 为 1.01%。

2.10 样品测定:取白芍和炒制 5、7.5、10、12.5、15 min 的酒白芍,制备供试品溶液。精密吸取芍药苷对照品溶液 20 μL、供试品溶液 20 μL,按上述色谱条件测定芍药苷峰面积,按外标法计算芍药苷的质量分数,结果见表 1。

表 1 样品中芍药苷的测定结果(n=3)

样 品	炮制时间/min	芍药苷/%	RSD/%
白芍	0	1.08	3.34
酒白芍	5	0.97	2.21
酒白芍	7.5	0.91	2.37
酒白芍	10	0.83	1.97
酒白芍	12.5	0.76	2.26
酒白芍	15	0.65	3.45

3 讨论

将芍药苷对照品溶液与供试品溶液分别用紫外分光光度法在 200~600 nm 内扫描,最大吸收波长与文献报道^[2]一致,故将芍药苷的检测波长定为 230 nm。

本研究表明酒白芍随着炮制时间的延长,其中芍药苷的量降低,且呈线性态势,提示炮制时间对酒白芍的质量有影响,在炮制酒白芍时要控制时间。

References:

[1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
[2] Liu J H, Wang S F. Determination of paeoniflorin content in Wujibaifeng Tablets by HPLC [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2002, 33(4): 325.