

反相高效液相色谱法测定和络舒肝丸中芍药苷含量

向辽源¹,陈珊珊²,赵莉³

(1. 吉林省辽源市药品检验所,吉林 辽源 136200; 2. 吉林大学化学学院,吉林 长春 130021; 3. 黑龙江省大庆市人民医院,黑龙江 大庆 163000)

摘要:目的 建立测定和络舒肝丸中芍药苷含量的反相高效液相色谱法(RP-HPLC法)。方法 采用 Diamonsil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)为色谱柱,流动相为乙腈-0.2%磷酸溶液(18:82),流速为1.0 mL/min,检测波长为230 nm。结果 芍药苷进样量在0.1~0.9 μg 范围内与峰面积线性关系良好,回归方程 $Y=1180.28X+16.79$ ($r=0.9996$),平均加样回收率为97.84%,RSD=1.27% ($n=5$)。结论 RP-HPLC法操作简单,重现性好,可作为该丸剂中芍药苷的含量测定。

关键词:和络舒肝丸;芍药苷;反相高效液相色谱法;含量测定

中图分类号:R284.1;R286.0

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2006)19-0040-01

和络舒肝丸由白术、白芍、三棱、香附等27味药组成,具有疏肝理气、清化湿热、活血化瘀、滋养肝肾的功能,用于治疗慢性迁延性肝炎、慢性活动性肝炎及早期肝硬化。芍药苷含量测定方法有薄层扫描法^[1]、高效液相色谱法^[2]等。处方中白术、白芍为方中君药,故本试验以芍药苷为定量指标,用反相高效液相色谱法(RP-HPLC法)测定其含量,报道如下。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 series 高效液相色谱仪。芍药苷对照品(批号为0736-200118,含量测定用,中国药品生物制品检定所);乙腈为色谱纯;其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.2%磷酸溶液(18:82);流速:1.0 mL/min;检测波长:230 nm;柱温:25℃;进样量:5 μL。在此条件下色谱图见图1。

2.2 溶液制备

精密称取芍药苷对照品适量,加甲醇制成每1 mL含0.1 mg的溶液即得对照品溶液。取本品粉末3.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加50%甲醇50 mL,称定质量,浸渍2 h,超声处理30 min,放冷,再称定质量,以50%甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,精密吸取续滤液25 mL,上中性氧化铝柱(玻璃柱,内径1 cm,装中性氧化铝8 g),继用50%甲醇洗脱,收集洗脱液100 mL,蒸干,残渣加80%甲醇溶解并定容至25 mL量瓶中,用微孔滤膜滤过即得供试品溶液。取不含白芍的阴性样品,按供试品溶液的制备方法制备阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察

线性关系考察:精密称取芍药苷对照品适量,以甲醇为溶剂,配成浓度为0.0981 mg/mL的对照品溶液,精密吸取对照品溶液1,3,5,7,9 μL。按上述色谱条件分别注入液相色谱仪,测定峰面积,以芍药苷进样量(μg)为横坐标(X)、峰面积为纵坐标(Y)进行线性回归,得回归方程 $Y=1180.28X+16.79$, $r=0.9996$ 。结果表明,芍药苷进样量在0.1~0.9 μg 范围内与峰面积线性关系良好。

系统适用性试验:分别精密吸取芍药苷对照品溶液、供试品溶液及阴性对照品溶液各5 μL,依法测定。供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应位置上有相应的色谱峰,而阴性对照品溶液无干扰。

精密度试验:取同一供试品溶液,重复进样5次。测得芍药苷

峰面积积分值分别为603.42,589.69,591.36,591.19,591.98,平均值为593.53,RSD=0.94%,表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取同一供试品溶液,于0,2,8,13,24 h时进样,测定芍药苷峰面积。结果芍药苷峰面积积分值的平均值为870.22,RSD=1.68%,表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

重现性试验:精密取同一批样品5份,按2.2项下供试品溶液制备方法制备溶液,在上述色谱条件下测定,测得平均含量为1.6286 mg/mL,RSD=0.79%,表明方法重现性良好。

加样回收试验:取已知含量的同一批样品0.15 mg共5份,精密称定,分别精密加入芍药苷对照品0.2802 μg(芍药苷2.802 μg/5 mL),

表1 芍药苷加样回收试验结果

精密加入	样品含量	加入量	测得量	回收率	\bar{X}	RSD
(mg)	(μg)	(μg)	(μg)	(%)	(%)	(%)
0.1603	0.2611	0.2802	0.5368	98.39		
0.1589	0.2588	0.2802	0.5267	95.61		
0.1566	0.2550	0.2802	0.5307	98.39	97.11	1.27
0.1504	0.2449	0.2802	0.5202	98.25		
0.1501	0.2444	0.2802	0.5202	98.43		

2.4 样品含量测定

按上述色谱条件,依法测定3批样品。结果3批样品中芍药苷的平均含量分别为2.0856,2.0478,2.0652 mg/g。

3 讨论

3.1 曾试用不同方法制备供试品溶液,用氯仿索氏提取脱脂至无色,残渣及滤纸筒一并转移至锥形瓶中,分别精密加甲醇25 mL及100 mL,浸渍2 h,超声处理30 min,其中加甲醇25 mL的溶液直接经0.45 μm 微孔滤膜滤过后测定;而另外一份溶液滤过,精密吸取续滤液50 mL,蒸干,残渣加水10 mL使溶解并定量转移至已处理好的D-101大孔吸附树脂柱(玻璃柱,内径2 cm,装树脂高度15 cm)上,以1.5 mL/min的流速,依次以氨试液5 mL、水80 mL洗脱,继以50%乙醇洗脱,收集洗脱液80 mL,置水浴上蒸干,残渣以甲醇溶解并定容至25 mL量瓶中,用0.45 μm 微孔滤膜滤过后测定。结果,样品中芍药苷峰均有干扰,故选用了文中介绍的样品溶液制备方法。

3.2 用RP-HPLC法测定和络舒肝丸中芍药苷的含量,被测组分的分离较好,操作简单且重现性好,故此法可作为该丸剂的含量测定方法。

参考文献:

- [1] 张庆生,王宝聚. 薄层扫描法测定白芍及复方白芍片芍药苷的含量[J]. 中国中药杂志,1991,16(9):542.
- [2] 张菊红,王志伟. 高效液相色谱法测定益妇胶囊中芍药苷的含量[J]. 中成药,2001,23(6):409.

(收稿日期:2006-04-13;修回日期:2006-06-01)