

• 论著 •

养血软坚方定性定量方法的研究

刘 力 徐德生

(上海中医药大学附属曙光医院 200021)

摘要 对养血软坚方中白芍、秦艽等药进行薄层定性鉴别,并用高效液相色谱法测定白芍中的芍药甙和秦艽中的龙胆苦甙含量,操作简便,重现性好。芍药甙回收率为 101.9%,RSD 为 0.74%;龙胆苦甙回收率为 98.23%,RSD 为 2.03%。

关键词 养血软坚方 芍药甙 龙胆苦甙 高效液相色谱法 薄层层析

Qualitative and Quantitative Analyses of Yangxue Ruanjian Granule

Liu Li, Xu Desheng

(Shuguang Hospital attached to Shanghai University of TCM, Shanghai 200021)

Abstract: Radix Paeoniae Alba, Radix gentianae macrophyllae in Yangxue Ruanjian granule were qualitative identified by TLC, and the contents of paeoniflorin and gentiopicrosin in granule were analyzed quantitatively by HPLC. It was shown that the methods were sensitive with high reproducibility, the recovery of paeoniflorin being 101.9%, RSD 0.74% and that of gentiopicrosin being 98.23%, RSD 2.03%.

Key words: Yangxue Ruanjian Granule, Paeoniflorin, Gentiopicrosin, HPLC, TLC

养血软坚方系由白芍、秦艽、甘草、牡蛎等中药组成,具有清利湿热,通络止痛,攻毒散结之功效,临床上用于治疗骨质退行性病变。本文对方中主药白芍和秦艽二味中药用薄层进行定性鉴别,并以活性成分芍药甙和龙胆苦甙为指标,建立用高效液相色谱法测定方中该两种成分的定量方法。

1 仪器、试药和试剂

岛津 LC-5A 液相色谱仪,SPD-2AM 紫外检测器,C-RIB 数据处理机,CQ250 超声波清洗器(上海必能信超声有限公司生

产)。

芍药甙、龙胆苦甙对照品,由中国药品生物制品检定所提供;养血软坚方经本院水煎浓缩制成干燥颗粒。

薄层层析用 E·Merck 硅胶 60 高效板及上海试剂四厂的聚酰胺薄膜;甲醇为色谱用试剂,其余试剂均为分析纯规格。

2 定性分析

2.1 供试液的制备

2.1.1 供试品溶液 取养血软坚颗粒 1.5g,加甲醇适量,超声振荡 30min 后过滤,

滤液浓缩至 1ml 供点样用。

2.1.2 空白对照液 按处方组成份量,取除白芍、秦艽外的其余药味按工艺要求,分别制成不含白芍和不含秦艽的模拟颗粒,然后按供试品溶液制备的方法操作,得到缺白芍和缺秦艽的空白对照液。

2.1.3 对照药材液 分别称取白芍和秦艽生药粉末各 1g,按供试品溶液项下操作,得到白芍、秦艽对照药材液。

2.1.4 对照品溶液 分别配制芍药甙和龙胆苦甙的甲醇溶液,浓度均为 1mg/ml。

2.2 薄层定性鉴别

2.2.1 白芍 将供试品溶液、缺白芍的空白对照液各 10 μ l,白芍对照药材液 6 μ l 及芍药甙对照品溶液 3 μ l 分别点于同一块硅胶 G 高效板上,以氯仿-甲醇-醋酸(5:1:0.1)为展开剂,上行展开,取出,待溶剂挥尽后置碘缸中显色,日光下检视。

供试品和白芍薄层色谱中,在与对照品色谱相应的位置上显相同颜色的斑点。而缺白芍的空白对照品在相应位置上无色斑,如图 1。

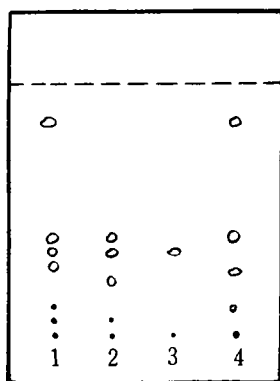


图 1 养血软坚颗粒中白芍的 TLC 图

1. 供试品 2. 对照药材
3. 芍药甙 4. 空白对照

2.2.2 秦艽 将供试品溶液、缺秦艽的空白对照液各 6 μ l、秦艽药材对照液及龙胆苦甙

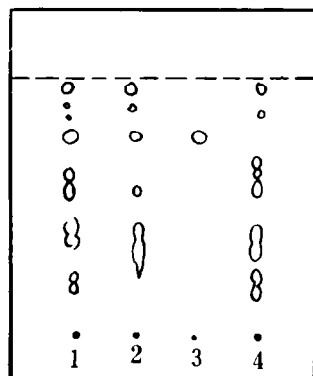


图 2 养血软坚颗粒中秦艽的 TLC 图

1. 供试品 2. 对照药材
3. 芍药甙 4. 空白对照

对照品溶液各 3 μ l 分别点样于同一聚酰胺薄膜上,以醋酸乙酯-甲醇(5:1)为展开剂,展层,取出晾干后,置 UV254/365nm 紫外灯下检视。

供试品和秦艽薄层色谱中,在与对照品色谱对应的位置上显相同颜色的斑点,而缺秦艽的空白对照品在相应位置上无斑点,如图 2。

3 定量分析

3.1 液相色谱条件

3.1.1 芍药甙 色谱柱为 YWG-C₁₈(4.6 \times 250mm,10 μ m),流动相为甲醇-水(34:66),流速 0.8ml/min,检测波长 230nm,量程为 0.08AUFS。在上述色谱条件下,芍药甙能与供试品中其它成分很好地分离,且空白对照品在相应位置无干扰。色谱图见图 3。

3.1.2 龙胆苦甙 色谱柱为 YWG-C₁₈(4.6 \times 250mm,10 μ m),流动相为甲醇-水(30:70),流速 1ml/min,检测波长为 270nm,量程为 0.08AUFS。在上述色谱条件下,龙胆苦甙能与供试品中其它成分较好地分离,且空白对照品在相应位置对龙胆苦甙测定无干扰。色谱图见图 4。

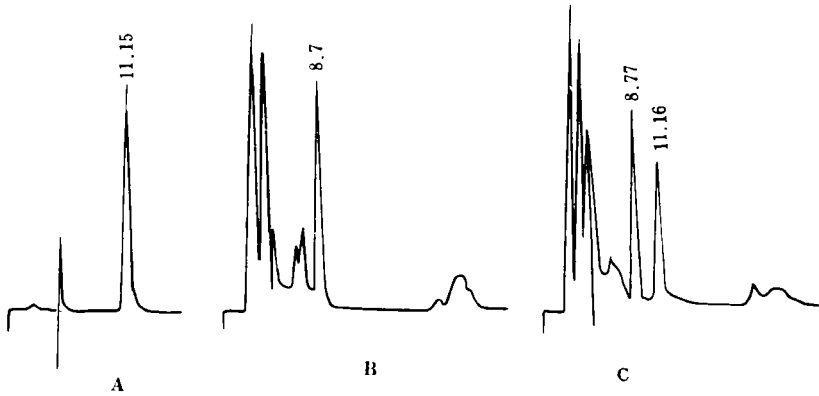


图3 养血软坚颗粒中白芍的HPLC图

A. 芍药甙 B. 空白对照 C. 供试品

$$Y = 8211.92x - 1960.13 \quad r = 0.9993$$

3.3 精密度试验

取芍药甙和龙胆苦甙对照品溶液,分别连续五次注入液相色谱仪,测得面积积分值,RSD分别为1.06%和2.12%

3.4 样品含量测定

取养血软坚颗粒研成粉末,精密称取1.5g置锥形瓶中,准确加入50%乙醇50ml,超声提取30min,过滤,弃去初滤液,收集续滤液并经过适当稀释后,经过0.45μm滤膜,滤液供测定芍药甙和龙胆苦甙。测定结果见表1。

表1 养血软坚颗粒中芍药甙和龙胆苦甙含量

批号	芍药甙(%)	龙胆苦甙(%)
940101	1.494	5.747
941012	0.981	6.083
941026	1.135	4.416

3.5 加样回收试验

取已知含量的养血软坚颗粒三份,加入一定量芍药甙,测定结果见表2。取已知含量的胶囊内容物四份,加入一定量龙胆苦甙,测定结果见表3。

表2 芍药甙回收率试验

序号	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	\bar{X} (%)	RSD(%)
1	0.96	0.9862	102.73	101.90	0.74
2	0.96	0.9762	101.69		
3	0.96	0.9722	101.27		

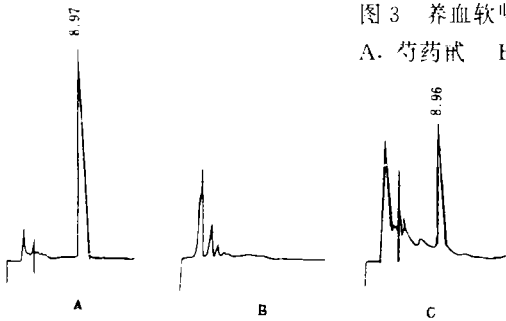


图4 养血软坚颗粒中秦艽的HPLC图

A. 龙胆苦甙 B. 空白对照 C. 供试品

3.2 标准曲线的绘制

3.2.1 芍药甙

精密称取芍药甙对照品1.1mg,用乙醇溶解定容至10ml量瓶中,吸取1.0、3.0、5.0、7.0、9.0和10.0μl进样分析。芍药甙在0.11~1.10μg之间面积积分值与进样量呈良好的线性关系,其线性回归方程为:

$$Y = 21732.78x - 834.53 \quad r = 0.9998$$

3.2.2 龙胆苦甙

精密称取龙胆苦甙对照品1.2mg,用甲醇溶解并定容至10ml,分别吸取5.0、10.0、20.0、30.0、40.0和50.0μl进样。龙胆苦甙在0.6~6.0μg之间面积积分值与进样量呈线性关系,其线性回归方程为:

表3 龙胆苦甙回收率试验

序号	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	\bar{X} (%)	RSD(%)
1	1.51	1.5036	99.58		
2	1.51	1.4386	95.27		
3	1.51	1.4920	98.81	98.23	2.03
4	1.51	1.4986	99.24		

4 讨论

4.1 本文所用高效液相色谱条件除能测定养血软坚颗粒中芍药甙和龙胆苦甙含量外,对白芍和秦艽药材也能方便的测定。

4.2 在上述色谱条件下,缺白芍和缺秦艽的空白试验表明,各检出成分不受药物颗粒中其它中药的干扰,证明本文所采用的方法专属性较强,可用于该药的质检。

4.3 实验中对提取溶剂进行了考察,选择了甲醇、乙醇和50%乙醇三种提取溶剂,采用超声30min对供试品进行提取。结果表明,

以50%乙醇作为提取溶剂,芍药甙提出率显著提高,而对龙胆苦甙,三种提取溶剂的提出率无显著差异。为方便起见,本实验用50%乙醇作为提取溶剂,所得的供试液同时用来测定芍药甙和龙胆苦甙。

参 考 文 献

- [1] 孙文基等. 药物分析杂志 1994;14(1): 41
- [2] 李俊等. 中国药学杂志 1991;26(5): 289