

HPLC 法测定通心络胶囊中芍药甙的含量

戴 敬 李建晨 徐韧柳 冯 丽

(河北省药品检验所 石家庄 050011)

摘要 用 HPLC 法测定通心络胶囊中芍药甙含量,方法简便、快速、分离度和重现性好。回收率为 99.5%,RSD 为 3.7%。

关键词 高效液相色谱法 通心络胶囊 芍药甙

HPLC Determination of Paeoniflorin in Tongxinluo Capsules

Dai Jing, Li Jianchen, Xu Renliu, Feng Li

(Hebei Provincial Institute for Drug Control, Shijiazhuang, 050011)

Abstract The Paper describes a HPLC method for determining Paeoniflorin in Tongxinluo Capsules. The method is simple, rapid, repeatable and with high reproducibility. The recovery of paeoniflorin is 99.5%, RSD 3.7%.

Key words HPLC method, Tongxinluo Capsules, Paeoniflorin

通心络胶囊是由人参、水蛭、赤芍、乳香等十二味动植物药组成,具益气通络、解痉止痛之功效,用于胸痹心痛、胸闷憋气等症。为严格控制该制剂的内在质量,以 HPLC 法对其中药味赤芍所含芍药甙的含量进行了测定。本方法具简便、快速、分离度和回收率高、重现性好等特点。

1 仪器、试剂、样品

仪器 日本岛津 LC-10AD 泵,SPD-

M10A 二级管阵列检测器,CLASS-LC10 色谱工作站。

试剂 芍药甙:中国药品生物制品检定所提供;甲醇:优级纯;其它试剂均为分析纯。

样品 通心络胶囊:石家庄开发区黄帝制药厂提供(批号:940701 940703 940705)。

2 色谱条件

色谱柱:Shim-Pack CLC-ODS 不锈钢

色谱柱,6.0×150mm,微粒直径 5μm;流动相:甲醇-水(30:70);流速:1.0ml/min;检测波长:220nm;理论塔板数:4000 以上。

3 实验方法与结果

3.1 对照品溶液的配制 精密称取芍药甙对照品适量,加甲醇配制成 0.089mg/ml 的溶液,作为对照品溶液。

表 1 线性关系考察结果

进样量(μg)	峰面积
0.178	231269
0.445	597255
0.890	1186809
1.335	1774378

3.2 线性关系考察 精密吸取对照品溶液 2、5、10、15μl 分别注入高效液相色谱仪,测定峰面积,以峰面积积分值为纵坐标,芍药甙进样量(μg)为横坐标,绘制标准曲线,计算得回归方程 $Y = -726 + 1331676X$, $r = 0.999976$,如以零点参加回归,则 $Y = -382 + 1331326X$, $r = 0.999984$,表明该标准曲线通过原点。芍药甙量在 0.17~1.3μg 范围内具有良好的线性关系。测定结果见表 1。

3.3 供试品溶液的制备及测定 精密称取装量差异项下内容物 0.5g(约相当于芍药甙 1.25mg),置具塞三角瓶中,精密加水饱和的正丁醇溶液 25ml,称定重量,放置过夜,次晨超声振荡 30 分钟,放冷、称重,补足重量,滤过、弃去初滤液,精密吸取续滤液 10ml,于蒸发皿中水浴蒸干,残渣以水 15ml,石油醚 10ml、5ml 脱脂二次,分取水层,合并石油醚液,以水 10ml 分两次提洗醚层,合并水溶液,水浴蒸干,残渣以甲醇定容至 5ml,以 0.45μm 的微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。分别吸取对照品溶液及供试品溶液各 10μl,注入高效液相色谱仪,按上述色谱条件测定峰面积。

3.4 仪器精密度试验 精密吸取对照品溶液 10μl,重复进样 5 次,芍药甙峰面积积分值

的相对标准偏差为 0.47%。

3.5 通心络胶囊空白对照试验 取不含赤芍的通心络胶囊样品,按上述供试液制备法处理、测定。结果表明,在芍药甙出峰位置处,无其它干扰峰。见图 1。

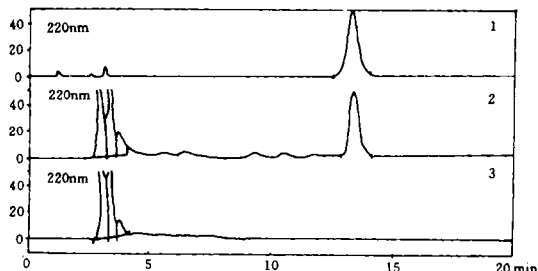


图 1 通心络胶囊 HPLC 图谱

1. 芍药甙 2. 样品 3. 空白对照

3.6 回收率试验 采用 1:1 加样回收法,取已知含量的样品,精密称取 5 份(约 0.25g),分别精密加入芍药甙对照品溶液(0.1144mg/ml)5ml,小心挥尽溶剂,同上法处理,测定并计算,5 次平均回收率为 99.5%,RSD 为 3.7%。结果见表 2。

表 2 回收率测定结果

次数	样品中芍药甙量(mg)	添加芍药甙量(mg)	测出芍药甙量(mg)	回收率(%)
1	0.6393	0.572	1.2089	99.6
2	0.6232	0.572	1.2053	101.8
3	0.6503	0.572	1.2442	103.8
4	0.6362	0.572	1.1978	98.2
5	0.6421	0.572	1.1807	94.2

注:平均回收率 99.5%;RSD3.7%。

表 3 重复性试验结果

次数	每粒含芍药甙(mg)	RSD%
1	0.9720	
2	0.9465	
3	0.9069	
4	0.9175	3.5
5	0.9645	
6	0.9954	

3.7 重复性试验 按上法对 940703 批样品的含量进行 6 次测定,计算相对标准偏差为

3.5%。结果见表3。

3.8 样品测定 按上法测定三批样品中芍药甙的含量。结果见表4。

表4 样品的测定结果

批号	芍药甙含量(mg/粒)	RSD%
940701	0.9707 (n=3)	1.9
940703	0.9505 (n=6)	3.5
940705	0.9763 (n=3)	2.1

4 讨论

4.1 供试液制备方法 HPLC法测定各类制剂中芍药甙含量的方法早有刊载^[1,2],但多以甲醇或水超声处理后直接测定。由于本处方中含有多种动物药及树脂类药—乳香,故对测定产生较大影响。曾试用甲醇提取液、正丁醇提取液直接进样测定,但基线均较高,无法测定。鉴此,选用溶解范围稍窄的正丁醇作为提取溶剂,并事先以水饱和,并放置过夜,以增加溶剂的穿透性,再经超声处理,即可使样品中的芍药甙全部溶出。曾对超声处理30分钟和60分钟的测定结果进行比较,含量基本一致,表明30分钟即可提取完全。提取液经石油醚脱脂,以除去脂溶性杂质,达到净化样品的目的,减少对柱的污染,延长色谱柱的使用寿命,且对柱效的要求有所降低。

4.2 测定波长的选择 文献报道的检测波

长多为230nm^[3,4],由芍药甙对照品及样品中芍药甙峰的紫外吸收图谱(图2)可见,最大吸收峰在215nm处,对在215、220、225、230nm测定值计算比较,结果在前三个波长处的含量几近相同,故选220nm为检测波长,一方面提高检测灵敏度,另一方面减小对仪器波长精度的要求。

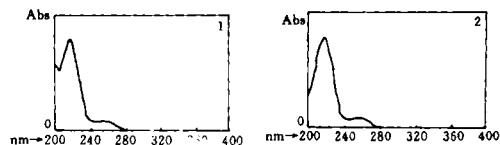


图2 紫外吸收图谱

1. 对照品芍药甙峰 2. 样品中芍药甙峰

4.3 流动相 样品经一系列预处理,只用甲醇-水(30:70)即可使芍药甙与其它组分达到基线分离(图1)。

参 考 文 献

- [1]李章万,刘三康,郭平等. 药物分析杂志 1990; 10(6): 331
- [2]李俊,胡志厚,刘良初等. 中国药学杂志 1991; 26(5): 289
- [3]赤田良信他. 药学杂志(日) 1979;98: 858
- [4]原田正敏. 国外医学植物药分册 1992;7(3):