

HPLC 法测定止血合剂中芦丁的含量

仇雅静*

(江苏省泰州药品检验所, 江苏 泰州 225300)

[摘要] 目的: 建立止血合剂中芦丁的含量测定方法。方法: 高效液相色谱法。采用 Symmetry C₁₈ 柱(3.9 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.2% 磷酸(45: 55), 检测波长为 360 nm。结果: 该方法线性关系良好, 平均加样回收率为 100.81%。结论: 该方法简便、准确, 可用于测定止血合剂中芦丁的含量。

[关键词] 高效液相; 止血合剂; 芦丁

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2008)11-0012-02

止血合剂是由槐米、地榆炭、黄芩、枳壳、当归炭等 12 味中药组成, 具有清热凉血、疏风止血的功效。槐米为方中君药, 芦丁为其有效成分之一。为有效控制产品质量, 笔者参考有关文献^[1,2], 采用高效液相色谱法测定止血合剂中芦丁的含量。

1 仪器与试剂

Waters2695/2996/Empower 高效液相色谱系统。芦丁对照品(中国药品生物制品检定所提供, 批号为 0080-9705); 止血合剂样品(泰兴市中医院, 批号: 071122、071123、071126); 甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Symmetry C₁₈ 柱(3.9 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.2% 磷酸(45: 55); 检测波长: 360 nm; 流速: 1 mL·min⁻¹; 柱温: 35 °C。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取芦丁对照品 21.68 mg, 置 20 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 作为储备液, 备用; 精密量取储备液 2 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 供试品溶液的制备 分别以水、稀乙醇、甲醇为提取溶剂, 考察了加热回流、超声提取、直接稀释不同提取方法对芦丁提取率的影响。

结果表明, 以甲醇为提取溶剂, 峰形好、提取效率高, 故选用甲醇作为供试品溶液制备的提取溶剂。加热回流、超声提取、直接稀释对芦丁的提取效率无

显著性差异, 故选用直接稀释法制备供试品。

优化后的供试品溶液制备为: 精密量取样品溶液 10 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

按照上述方法, 对止血合剂及不含槐米的止血合剂阴性对照溶液进行测定, 结果供试品溶液中芦丁峰与其他组分峰分离良好, 阴性对照溶液在相应的保留时间无吸收峰出现。(见图 1)

2.4 线性关系考察 取芦丁对照品储备液(1.084 mg·mL⁻¹), 用甲醇稀释制成 0.054 2, 0.108 4, 0.216 8, 0.325 2, 0.542 mg·mL⁻¹ 的系列溶液, 各取 10 μL 进样, 测定峰面积, 以芦丁进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 计算回归方程为: $Y = 1.47 \times 10^6 X - 5.54 \times 10^4$, $r = 0.999 7$ 。结果表明, 芦丁在(0.542~5.42) μg 范围内呈良好线性关系。

2.5 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液 10 μL, 重复进样 5 次, 在上述相同色谱条件下, 进行测定。RSD 为 0.5% ($n = 5$)。

2.6 重复性试验 精密吸取同一批号的样品 5 份, 按供试品溶液制备方法制备。再精密吸取以上溶液 10 μL 进样, 在上述相同色谱条件下, 进行测定。RSD 为 1.0% ($n = 5$)。

2.7 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 10 μL, 按上述色谱条件, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 24 h 各进样 1 次, 进行测定, RSD 为 0.7%。结果表明样品溶液在 24 h 内稳定。

2.8 回收率试验 取已知含量为 1.301 mg·mL⁻¹ 的样品 5 mL, 分别精密加入浓度为 1.027 mg·mL⁻¹ 的对照品溶液 3 mL、5 mL, 按样品溶液制备方法制样 5

[收稿日期] 2008-03-12

[通讯作者] * 仇雅静, Tel: (0523) 86850509; E-mail: qyj067@sohu.com

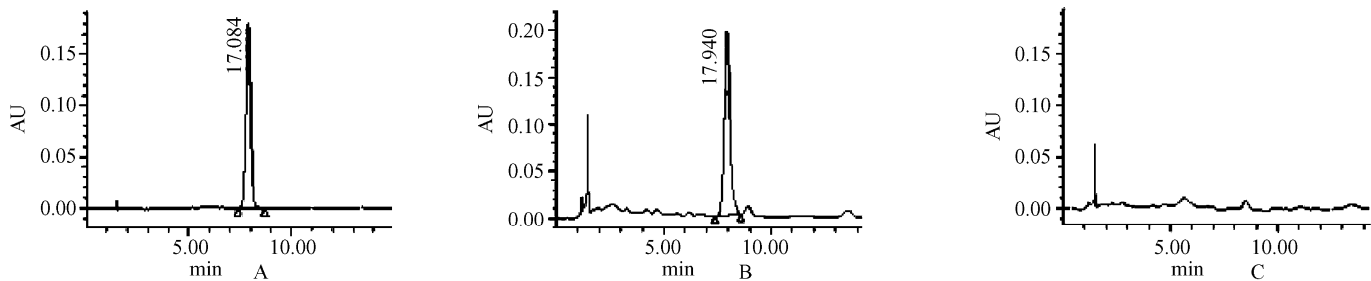


图 1 芦丁 HPLC 图

A 对照品; B 止血合剂; C 阴性样品

份,按 2.1 项下测定,计算回收率,结果见表 1。

表 1 加样回收试验结果 ($n=5$)

样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测定量 (mg)	回收率 (%)	平均回收 率(%)	RSD (%)
6.505	3.081	9.685	101.52		
6.505	3.081	9.714	101.97		
6.505	3.081	9.634	100.74	100.81	1.03
6.505	5.135	11.675	100.54		
6.505	5.135	11.593	99.28		

2.9 样品含量测定 精密吸取不同批号的样品,按样品溶液制备方法制备,在上述色谱条件下,进行含量测定,结果见表 2。

3 讨论

曾选择 254 nm 作为检测波长,但其他成分的干扰很大,测得在(210~ 400) nm 的 3D 色谱图后发现

在 360 nm 处芦丁峰与其他组分峰分离良好,且阴性对照无干扰。

表 2 样品含量测定结果 ($n=3$)

批号	芦丁含量($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	RSD(%)
071122	1.301	0.94
071123	1.324	0.75
071126	1.185	1.08

实验结果显示,HPLC 法测定含量,样品预处理简单,结果准确,可作为止血合剂含量的控制方法。

[参考文献]

- [1] 方晓明, 訾慧, 陈再兴, 等. 宁血片中芦丁的 HPLC 含量测定方法研究[J]. 中国药品标准, 2006, 7(3): 53.
- [2] 栾雨. RP-HPLC 法测定消咳喘糖浆中芦丁的含量[J]. 黑龙江中医药, 2007, 3(3): 43.