

• 质量标准 •

高效液相色谱法测定乳核内消颗粒中芍药苷的含量

宁康健^{1*}, 冯惠平², 何胜利²

(1. 安徽科技学院, 安徽 凤阳 233100; 2. 天津药业集团新郑股份有限公司, 河南 新郑 451150)

[摘要] 目的: 应用高效液相色谱法测定乳核内消颗粒(RHNXKL)中芍药苷的含量。方法: 采用十八烷基硅烷键合硅胶柱(5 μm, 4.6 mm × 150 mm), 0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶液-甲醇(80:30)为流动相, 检测波长为 230 nm, 流速为 1.0 mL/min。结果: 芍药苷在 0.617 4~3.087 μg 范围内, 进样量与峰面积呈良好的线性关系($r=0.999\ 9$), 平均加样回收率为 99.07%, $RSD=1.2\%$ ($n=5$)。结论: 该方法测定结果准确、灵敏、重现性好。

[关键词] 乳核内消颗粒; 芍药苷; 高效液相色谱法; 含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)12-0024-02

乳核内消颗粒处方源于唐代药王孙思邈的《千金要方》, 具有疏肝活血、软坚散结之功效。该方流传千余年, 至今仍为治疗乳核、乳癖的经典之方。现为《部颁标准中药成方制剂》所载。乳核内消颗粒是由赤芍、浙贝母、当归、漏芦、茜草、香附、柴胡、橘核、夏枯草、丝瓜络、郁金、甘草十二味药材组成^[1]。为控制产品质量, 本研究通过对处方中君药赤芍所含的有效成分芍药苷进行含量测定, 旨在建立一种灵敏、专属、可靠的高效液相色谱法。

1 仪器与试剂

LC-10ATVP 型高效液相色谱仪(日本岛津); SPD-10AVP 紫外可见检测器; ANASTAR 色谱工作站。芍药苷对照品(批号为 110736-200420, 中国药品生物制品检定所); 磷酸二氢钾(分析纯, 北京亚太龙兴化工有限公司); 甲醇(分析纯, 北京化工厂)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性^[2,3] 色谱柱为十八烷基硅烷键合硅胶柱, 0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶液-甲醇(80:30)为流动相, 检测波长为 230 nm, 流速为 1.0 mL/min, 柱温: 30 °C; 进样量为 10 μL, 芍药苷理论板数应不低于 3 000。

2.2 检测波长的选择 称取芍药苷对照品适量, 配成每 1 mL 含 2.0 mg 的溶液, 在 200 nm~400 nm 的

波长范围内扫描。结果在 230 nm 处有最大吸收, 故确定本品的检测波长为 230 nm。

2.3 对照品溶液的制备 精密称取经五氧化二磷减压干燥器中干燥 36 h 的芍药苷对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 中含 0.2 mg 的溶液, 作为对照品溶液。

2.4 供试品溶液的配制 取乳核内消颗粒碾碎, 取约 4 g 精密称定, 置锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 称定重量, 超声(100 KHZ) 40 min, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失重量, 摇匀, 滤过, 作为供试品溶液。

2.5 线性关系考察 精密吸取对照品溶液(0.205 8 mg/mL) 3, 6, 9, 12, 15 μL 按已拟定的色谱条件测定峰面积, 以峰面积积分为纵坐标, 芍药苷量为横坐标绘制标准曲线, 计算得回归方程: $Y=144\ 138.133X+17\ 269$, $r=0.999\ 9$ 。实验表明芍药苷在 0.617 4~3.087 μg 范围内呈良好的线性关系。

2.6 溶液稳定性试验 分别取同一份供试品溶液 10 μL, 按上述色谱条件每隔一定时间测定其峰面积, 考察样品溶液的稳定性, 计算相对标准偏差, 结果表明供试品溶液在 8 h 内基本稳定, RSD 为 0.52%。

2.7 仪器精密度试验 取稳定性项下的供试品溶液, 连续进样 5 次, 每次 10 μL, 记录色谱图, 结果表明仪器的精密度良好, RSD 为 0.25%。

2.8 重复性试验 精密称取样品(030115) 5 份, 制成供试品溶液, 按拟定的色谱条件测定峰面积, 并计算含量和相对标准偏差, 结果表明该方法测定样品的含量重复性好, RSD 为 1.84%。

[收稿日期] 2006-01-26

[基金项目] 安徽教育厅自然科学基金项目(NO. 2005-kj160)

[通讯作者] * 宁康健, Tel: (0550) 6733113; E-mail: nkj2101@sohu.com

2.9 加样回收率试验 取已知含量的乳核内消颗粒(030115)5份,分别添加芍药苷对照品适量,制成供试品溶液,按上述色谱条件测定,结果表明本法具有良好的回收率,见表1。

表1 回收率测定结果

| 实验次数 | 称样量 (g) | 样品含量 (mg) | 添加量 (mg) | 实测量 (mg) | 回收率 (%) | 平均回收率 (%) | RSD (%) |
|------|---------|-----------|----------|----------|---------|-----------|---------|
| 1 | 1.492 6 | 1.970 | 2.590 | 4.063 | 100.14 | | |
| 2 | 1.483 9 | 1.959 | 2.590 | 3.987 | 97.03 | | |
| 3 | 1.476 5 | 1.949 | 2.590 | 4.020 | 99.09 | 99.07 | 1.20 |
| 4 | 1.490 4 | 1.967 | 2.590 | 4.047 | 99.52 | | |
| 5 | 1.505 8 | 1.988 | 2.590 | 4.069 | 99.57 | | |

2.10 样品的测定 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各10 μL,按上述色谱条件测定,计算芍药苷含量,分别为1.30,1.31,1.29 mg/g。

2.11 阴性溶液的制备 按制备工艺制成缺赤芍的阴性样品,供试品制备方法制成缺赤芍的阴性溶液。吸取阴性样品10 μL进样,结果表明在样品保留时间处无明显杂质峰干扰。

3 讨论

色谱条件选择中曾以十八烷基硅烷键合硅胶柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm)为色谱柱,分别以0.05

mol/L 磷酸二氢钾溶液-甲醇(65:40) 0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液-甲醇(70:30) 0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液-甲醇(80:20)为流动相,检测波长为230 nm,结果此条件下的主峰与杂质峰分离均不理想。

在供试品溶液的制备中,还对提取溶剂甲醇的浓度和提取时间进行了研究。提取溶剂甲醇浓度分别为100% 50% 30%,结果以甲醇原液提取效果最佳;提取时间分别为超声20 min 40 min 60 min,结果超声40 min与60 min相当,且明显高于20 min,故确定提取时间为超声40 min。

应用高效液相色谱法测定乳核内消颗粒(RHNXKL)中芍药苷的含量,该方法快速简便测定结果准确、灵敏、重现性好。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国卫生部颁标准中药成方制剂[S]. 第六册, 1998. 91.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005. 109.
- [3] 国家药品监督管理局信息中心. 中药制药技术及工艺汇编[C]. 北京: 国家药品监督管理局信息中心编, 2000. 149-151.