

• 质量标准 •

# 高效液相法测定赤蒲颗粒中芍药苷的含量

郭宇洁, 徐 辉, 刘建勋  
(中国中医研究院西苑医院, 北京 100091)

**摘要:** 目的: 制定赤蒲颗粒中芍药苷的含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法, Symmetry-C<sub>18</sub> (3.9 × 150mm, 5μm) 色谱柱, 流动相为乙腈-水(7:43), 检测波长为 230nm。结果: 芍药苷线性范围为 2.056μg~ 10.28μg ( $r = 1.0000$ ,  $n = 5$ ), 平均回收率为 99.05%, RSD= 0.9356% ( $n = 6$ )。结论: 该方法准确、重复性好, 可用于该制剂的质量控制。

**关键词:** 芍药苷; 高效液相色谱法; 赤蒲颗粒

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2005)06-0014-02

赤蒲颗粒是中药复方制剂, 由十一味中药组成。具有活血化瘀, 温经止痛, 扶正固本的功效, 经多年临床验证, 有很好的临床疗效, 所以研制为成药制剂。处方中药味多, 成分复杂, 君药赤芍的有效成分芍药苷有显著抑制血小板聚集、减轻血栓干重、明显延长体外血栓形成时间等作用<sup>[1]</sup>, 还有抗炎、提高免疫力和抑制子宫平滑肌的收缩<sup>[2]</sup>等作用。本文建立了芍药苷的 HPLC 含量测定方法, 取得满意结果, 可以有效控制制剂的质量。

## 1 仪器与试剂

高效液相色谱仪: Waters515 泵, Waters 996 二极管阵列检测器, Waters717 自动进样器, Millennium<sup>32</sup> Login 工作站。

芍药苷对照品: 购于中国药品生物制品检定所, 编号为 0736-9811。经高效液相色谱检查, 纯度符合规定。

乙腈、磷酸和甲醇为色谱纯; 水为超纯水; 其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱为 Symmetry-C<sub>18</sub> 5μm (3.9 × 150mm); 流动相为乙腈-水(7:43); 检测波长为 230nm; 流速 0.6mL/min。理论塔板数按芍药苷计算应不低于 3000。在此条件下芍药苷与其他成分达到基线分离。

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取芍药苷对照品适量, 加甲醇制成每 1mL 含 0.5mg 的溶液, 即得。

**2.3 检测波长的选择** 精密称取芍药苷对照品, 用甲醇溶解, 制成每 1mL 含有 0.5mg 的对照品溶液,

用 Waters 996 二极管阵列检测器进行扫描, 扫描范围为 200nm~ 400nm, 结果在 230nm 处有最大吸收, 故选择检测波长为 230nm。

## 2.4 提取条件的选择

**2.4.1 样品提取方法选择** 取样品 4 份, 精密称定, 精密加入甲醇 20mL, 称定重量, 前两份加热回流 1.5h, 后两份超声处理 30min, 样品均放冷后再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 用微孔滤膜 (0.45μm) 滤过, 取续滤液作为供试品溶液, 结果见表 1。

表 1 样品不同提取方法比较的结果

提取方法	芍药苷含量平均值(mg/g)
热回流	5.3072
超声处理	5.3391

以上结果表明, 超声提取与加热回流提取含量相近, 且超声提取比加热回流节省时间和能源, 操作简单, 故选择超声处理。

**2.4.2 超声处理时间的选择** 将同一样品称取 4 份, 精密称定, 按照样品制备方法分别超声处理 15、20、25、30min, 制备供试品溶液, 按照上述 3 条件测定其含量, 结果见表 2。

表 2 样品超声时间的选择

超声时间(min)	芍药苷含量平均值(mg/g)
15	5.2888
20	5.3402
25	5.3403
30	5.3012

以上结果表明, 超声处理 25min, 芍药苷已经基本提取完全, 故选择以甲醇超声处理 25min。

**2.5 空白试验** 按处方药味的比例, 自配不含赤芍

的群药,按工艺制成空白制剂,再按供试品溶液制备方法制成空白溶液,在上述色谱条件下测定,结果空白溶液在与芍药苷对照品相同保留时间处未显色谱峰,故认为无干扰。

**2.6 线性关系考察** 精密称取芍药苷对照品 5.14mg,置 10mL 量瓶中,加入甲醇至刻度,摇匀,制成每 1mL 甲醇含 0.514 mg 的对照品溶液,分别精密吸取 4.8、14.20mL,注入高效液相仪,测定峰面积,以芍药苷的进样量( $\mu\text{g}$ )为横坐标( $X$ )、峰面积为纵坐标( $Y$ ),绘制标准曲线,并计算回归方程: $Y = 2470306.043X + 284077.2935$ ,  $r = 1.0000$  ( $n = 5$ )。结果表明芍药苷在 2.056~ 10.28 $\mu\text{g}$  范围内,峰面积和进样量呈良好的线性关系。

**2.7 供试品溶液的制备** 取本品装量差异项下内容物,研细,取 1.2g,置具塞锥形瓶中,精密称定,精密加入甲醇 20mL,称定重量,超声处理 25min,取出,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,用微孔滤膜(0.45 $\mu\text{m}$ )滤过,取续滤液作为供试品溶液。

**2.8 精密度试验** 称取样品(批号 030301)一份,按上述方法制成供试品溶液,精密吸取同一供试品溶液,重复进样 5 次,测定峰面积,求得 RSD 为 0.9948%,说明仪器的精密度良好。

**2.9 稳定性试验** 称取样品一份,按正文方法制成供试品溶液,分别于配制后 0、1.2、4.6、8.10、24 h 依法测定,结果表明,供试品溶液在 24h 内基本稳定。

**2.10 重复性试验** 取同批样品(批号 030301)5 份,按正文方法进行测定,求得 RSD 为 1.59%,说明含量测定方法稳定,重复性好。

**2.11 回收率试验** 采用加样回收法,精密称取已知含量的同一批号(批号 030301)的样品 0.7g,分别精密加入芍药苷对照品,前三份分别加入 0.514mg/mL 的芍药苷甲醇溶液 4mL,后三份分别加入 0.514mg/mL 的芍药苷甲醇溶液 6mL,再分别精密加入甲醇至 20mL,其余按照正文样品制备方法进行测

定,平均回收率为 99.05%,RSD 为 0.9356%。说明含量测定方法可行,结果见表 3。

表 3 芍药苷回收率试验数据

样品序号	称样量(g)	样品量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	0.7851	4.1855	2.056	6.2076	98.35		
2	0.7012	3.7382	2.056	5.7508	97.89		
3	0.7862	4.1914	2.056	6.2252	98.92	99.05	0.9356
4	0.7040	3.7532	3.084	6.8057	98.98		
5	0.7263	3.8721	3.084	6.9476	99.72		
6	0.7830	4.1743	3.084	7.2726	100.46		

**2.12 样品测定结果** 按样品溶液制备项下的方法,测定样品三批,结果见表 4。

表 4 样品测定结果

样品批号	芍药苷平均含量(mg/袋)
030401	42.57
030402	42.46
030403	43.30

### 3 讨论

**流动相的选择** 甲醇-水-冰醋酸(30:70:0.5)系统下芍药苷峰拖尾,甲醇-0.05mol/L 磷酸二氢钾溶液(药典法)及乙腈-水系统芍药苷峰分离尚好,但前者和后者相比,有一定的酸度,对色谱柱易造成损坏,而乙腈-水(7:43)峰形对称,基线平稳,保留时间也合适,故流动相选用乙腈-水(7:43)。

**样品提取的条件** 超声提取比加热回流节省时间和能源,操作简单,故采用超声提取。

#### 参考文献:

- [1] 刘承珠,杨诗冲,赵凤娣,等.益母草、赤芍、当归、三棱、莪术、泽兰对大白鼠血液凝固作用的影响[J].中西医结合杂志,1982,2(2):111.
- [2] 王钰英,周军良,吴佩君,等.赤芍注射液的药理作用[J].中成药研究,1980,1:31.