

HPLC 法测定妇良片中芍药苷的含量

谭朝阳, 尤昭玲

(湖南中医学院中西医结合系, 湖南 长沙 410007)

摘要: 目的: 采用 HPLC 测定妇良片中芍药苷的含量。方法: Kromasil C₁₈ 色谱柱(250 × 4.6mm, 5 μ m), 流动相: 甲醇-水(25:75); 检测波长: 230nm; 结果: 芍药苷在 0.0996~0.498 μ g 范围内具有良好的线性关系, 相关系数 $r = 0.9996$, 平均加样回收率 99.74%, RSD 为 1.74% ($n = 5$)。结论: 方法简便, 准确, 重现性好, 可作为妇良片中芍药苷的含量测定方法。

关键词: 妇良片; 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(2004)04-0018-02

妇良片系由当归、熟地黄、白芍等十二味组成的复方制剂, 收载于《卫生部药品标准中药成方制剂》第十一册, 具补血健脾, 固经止带之功效。用于血虚脾弱, 带下质清, 崩漏色淡, 经后少腹隐痛, 头昏目眩, 面色无华^[1]。原质量标准较简单, 无含量测定, 为了更好地控制本品的质量, 本文采用高效液相色谱法对妇良片中芍药苷的含量进行了测定, 取得了满意的结果。

1 仪器、试剂与样品

高效液相色谱仪, 515 泵, 2487 紫外检测器(美国 waters 公司); N-2000 色谱工作站(浙江大学); 芍药苷对照品为中国药品生物制品检定所提供(供含量测定用, 批号: 0736-200118); 水为双蒸水, 甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。妇良片为湖南德海制药有限公司提供(批号: 20020901、20020902、

20020903)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Kromasil C₁₈(250 × 4.6mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-水(25:75); 检测波长: 230nm; 流速: 1.0ml/min。柱温: 30℃; 进样量: 10 μ l。

2.2 线性关系的考察 精密吸取浓度为 0.0996mg/ml 的芍药苷对照品溶液 1、2、3、4、5ml, 分别置 10ml 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 精密吸取 10 μ l 进样, 测定其峰面积积分值, 以浓度为横坐标, 峰面积积分值为纵坐标, 绘制标准曲线, 其回归方程为: $A = 1071377.07C + 3305.136$, $r = 0.9996$ 。结果表明芍药苷在 0.0996~0.498 μ g 范围内具有良好的线性关系。

2.3 稳定性试验 分别精密吸取同一份供试品溶液, 于 0、3、6、9、12h 进样, 测定芍药苷峰面积积分值, 结果表明, 12h 内峰面积积分值无大的变化, RSD 为 0.76%。

2.4 精密度试验 精密吸取同一份供试品溶液, 重复进样 5 次, 测定芍药苷峰面积积分值, 其 *RSD* 为 0.58%。

2.5 重复性试验 对取同一批样品(20020901) 5 份, 平行提取 5 份, 测定芍药苷平均含量为 0.30mg/片, *RSD* 为 1.26%。

2.6 加样回收试验 采用加样回收法, 精密称取已测定含量的同一批号样品(20020901) 5 份, 每份 0.8g, 分别精密加入芍药苷对照品溶液(0.0996mg/ml) 8ml, 按样品测定项下方法依法处理, 测定含量, 并计算回收率, 结果见表 1。

表 1 妇良片中芍药苷加样回收率试验结果表

样品中含芍药苷量(mg)	添加芍药苷量(mg)	实测芍药苷总量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	<i>RSD</i> (%)
0.8143	0.7968	1.5947	97.94		
0.8136	0.7968	1.5968	98.29		
0.8178	0.7968	1.6323	102.22	99.74	1.74
0.8167	0.7968	1.6171	100.45		
0.8194	0.7968	1.6145	99.79		

2.7 样品测定 取本品 10 片, 除去糖衣, 精密称定, 研细, 取约 1.5g, 精密称定, 置具塞三角瓶中, 精密加入甲醇 20ml, 称定重量, 浸泡过夜, 再超声处理 30min, 放冷, 称定重量, 加甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 10ml, 置水浴上蒸干, 残渣加水 10ml 使溶解, 过聚酰胺柱(100 目, 5g, 内径 10~15mm), 用水 13ml 洗脱, 收集洗脱液至 25ml 量瓶中, 并加水稀释至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜(0.5 μ m) 滤过, 注入高效液相色谱仪进行测定, 结果见表 2。

表 2 芍药苷含量结果表

批号	芍药苷含量(mg/片)
20020901	0.30
20020902	0.29
20020903	0.40

3 分析与讨论

中药复方制剂以芍药苷为指标进行含量测定的方法报道^[2-5] 较多, 有高效液相色谱法、薄层扫描法、分光光度法、毛细管区带电泳法等, 其中 HPLC

法操作简单, 快速准确, 故选用 HPLC 法测定妇良片中芍药苷的含量, 在选定条件下, 芍药苷峰和样品中其它组分色谱峰可达基线分离, 且与其它相邻色谱峰分离度大于 1.5; 按芍药苷峰计算, 理论板数在 1500 以上, 同时缺白芍的阴性溶液无干扰。

由于本品药味较多, 杂质干扰较大, 故对提取方法进行了研究, 比较提取液分别流经聚酰胺层析柱和中性氧化铝层析柱的去杂质效果, 结果表明, 前者较后者操作简单, 分离度、精密度及回收率均符合要求。

本品当归为君药, 曾采用 HPLC 法测定本品当归中阿魏酸的含量, 但因含量较低, 难以测定, 故测定臣药白芍的含量来控制本品的质量。

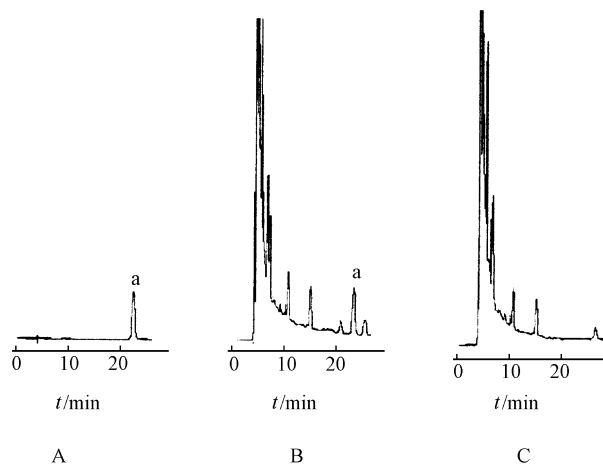


图 1 HPLC 色谱图

A. 对照品 B. 供试品 C. 缺白芍阴性样品 a. 芍药苷

参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 卫生部药品标准·中药成方制剂第十一册[S], 1996. 71-72.
- [2] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 78-79.
- [3] 王宝葵. 中成药质量标准与标准物质研究[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1994. 32-43.
- [4] 梁宏, 王春芳. 高效液相色谱法测定八珍九中芍药苷的含量[J]. 药物分析杂志, 1999, 9(1): 44-45.
- [5] 陈发奎. 常用中草药有效成分含量测定[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997. 188-197.