

高效液相色谱法测定便秘颗粒中芍药苷的含量

严建业, 王元清, 夏新华(湖南中医学院药剂教研室, 湖南 长沙 410004)

摘要:目的 建立便秘颗粒中芍药苷的含量测定方法。方法 采用 HPLC 测定制剂中芍药苷的含量。色谱柱: Polaris 5u C₁₈-A 柱(250×4.6mm), 流动相: 乙腈-水(17: 83), 检测波长: 230nm。结果 芍药苷含量测定的线性范围为 200~1000ng($r=0.9999$), 平均加样回收率为 98.82%, RSD 为 2.32%。结论 本法简便, 准确, 可用于便秘颗粒的质量控制。

关键词:便秘颗粒; 芍药苷; 高效液相色谱法

Determination of Paeoniflorin in Bianmi Granules by HPLC

YAN Jian-ye, WANG Yuan-qing, XIA Xin-hua(*Hunan college of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410004, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for the determination of Paeoniflorin in Bianmi Granules. **METHOD** HPLC was used to identify the contents of paeoniflorin. Polaris 5u C₁₈-A column and acetonitrile-water(17: 83) as the mobile phase. The detection wavelength was 230nm. **RESULTS** The liner range was 200~1000ng($r=0.9999$). The average recovery was 98.82%, RSD was 2.23%. **CONCLUSION** The method is simple, accurate and available for the quality control of Bianmi Granules.

KEY WORDS: Bianmi Granules; Paeoniflorin; HPLC

便秘颗粒主要由白芍、枳实等中药制备而成, 具有疏肝理气、通便消胀之作用, 临床用于便秘的治疗, 疗效显著。其中白芍为其君药, 所含主要有效成分为芍药苷。因此, 本文选择以芍药苷为指标成分, 采用高效液相色谱法进行测定。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters 高效液相色谱仪, Waters 2487 型双波长紫外检测器, Polaris 5u C₁₈-A 色谱柱(250×4.6mm), Breeze 工作站, C-R3A 数据处理器, MA110 型电子分析天平, 超声波提取器, UV-265 日本岛津自动记录分光光度计。

1.2 试剂

芍药苷对照品(批号: 0736-200015, 供含测用)由中国药品生物制品检定所提供; 便秘颗粒由湖南某药厂提供(规格为: 3g/袋); 乙腈为色谱纯, 水为重蒸馏水, 其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 检测波长的选择

取芍药苷对照品适量, 加甲醇制成对照品溶液, 置紫外分光光度计记录其紫外吸收光谱, 结果表明, 芍药苷在 230nm 波长处有最大吸收, 故选择 230nm 作为测定波长。

2.2 色谱条件

色谱柱: Polaris 5u C₁₈-A 柱(250×4.6mm)。流动相: 乙腈-水(17: 83)。检测波长: 230nm。流速: 1.0mL/min。柱

温: 室温。灵敏度: 2AUFS。理论塔板数以芍药苷计不低于 1500。

2.3 对照品溶液的制备

精密称取芍药苷对照品 12.5mg, 置 25mL 量瓶中, 加甲醇溶解, 并稀释至刻度, 摇匀; 精密量取 10mL, 置 50mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得(0.1mg/mL)。

2.4 供试品溶液的制备

取本品适量, 研细, 取细粉约 1.0g, 精密称定, 置磨口锥形瓶中, 加入乙醚 50mL, 回流 60min, 静置, 倾出乙醚液; 残渣挥干乙醚, 然后精密加入甲醇 50mL, 称定重量, 超声处理(200W, 40kHz)30min, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 滤过, 取其续滤液作为供试品溶液。

2.5 阴性对照液的制备

取缺白芍阴性样品颗粒 4g, 照供试品溶液的制备方法制备, 作为阴性样品溶液。

2.6 干扰试验

照上述色谱条件, 分别精密吸取供试品溶液、对照品溶液、阴性对照液各 5 μ L, 注入色谱仪。供试品色谱中, 在与对照品色谱图相应的位置上有一相同的色谱峰, 而阴性对照液未见干扰。

2.7 线性关系考察

精密吸取浓度为 0.1mg/mL 的芍药苷对照品溶液 2、4、6、8、10 μ L 进样, 测定其峰面积积分值, 以浓度为横坐标, 峰

作者简介: 严建业(1975~), 男, 湖南祁东人, 湖南中医学院药剂教研室教师, 主要从事药剂学教学与科研工作。电话: 0731-6572520, E-mail: yanjianye201@126.com

面积积分值为纵坐标,绘制标准曲线,其回归方程为: $Y = 7.61 \times 10^2 X - 9.88 \times 10^3$, $r = 0.9999$ 。可见芍药苷在 200 ~ 1000ng 范围内具有良好的线性关系。

2.8 提取时间的考察

实验考察了样品超声提取 30, 45, 60min 对芍药苷含量测定的影响,结果表明:样品在超声提取 30min 时,含量已基本提取完全,因此方法中采用超声提取 30min。见表 1。

表 1 不同提取时间芍药苷的含量

提取时间(min)	30	45	60
含量(mg/g)	6.47	6.56	6.59

2.9 精密度试验

精密吸取同一对照品溶液 5 μ L,重复进样 5 次,测定其峰面积积分值,结果 $RSD = 0.98\%$ ($n = 5$)。

2.10 稳定性试验

分别精密吸取同一样品供试溶液 5 μ L,于 0、1、2、4、8、24h 进样,测定其芍药苷峰面积积分值。结果表明,供试品溶液在 24h 内峰面积积分值基本稳定, $RSD = 0.88\%$ ($n = 5$)。

2.11 重复性试验

取同一批号样品(20010825)约 1.0g,共 5 份,按上述条件,测定其芍药苷含量。结果平均含量为 6.55mg/g, RSD 为 0.52% ($n = 5$)

2.12 加样回收率试验

精密称取已知含量的样品(批号:20010825,含量为 6.55mg/g)约 0.5g,分别精密加入芍药苷对照品溶液(0.50mg/mL)6.0mL(即 3.0mg),于水浴上挥干溶剂,然后按上述方法

制备供试品溶液,并测定含量,计算回收率,结果平均回收率为 98.82%, RSD 为 2.23%。见表 2。

表 2 回收率试验结果

编号	取样量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均值(%)	RSD(%)
1	0.5084	3.33	3.00	6.19	95.43		
2	0.5098	3.34	3.00	6.28	98.14		
3	0.5164	3.38	3.00	6.39	100.26	98.82	2.23
4	0.5292	3.47	3.00	6.44	99.14		
5	0.5100	3.34	3.00	6.37	101.13		

2.13 样品测定

按拟定的含量测定方法,测定三批样品中芍药苷的含量,结果见表 3。

表 3

批号	010725	010810	011015			
含量(mg/袋)	19.54	19.92	19.57	19.55	19.38	19.41

3 讨论

本品是一个复方制剂,由白芍等六味中药组成,其甲醇提取液所含成分复杂,颜色较深,实验表明,用甲醇提取液直接进样,图谱峰形不好,基线不平稳,且对 HPLC 柱污染严重。因此,对样品进行净化处理十分必要。我们采用乙醚进行脱脂净化处理,结果表明,样品经乙醚脱脂处理后,供试液颜色明显变浅,杂质的影响小,且回收率高,重复性好,方法简便,可以很好地控制本品的质量。

收稿日期:2002-09-30