

HPLC 测定去纤软肝胶囊中芍药苷的含量

李润文

(沈阳市第六人民医院, 辽宁沈阳 110006)

[摘要] 目的:建立去纤软肝胶囊中芍药苷的含量测定方法。方法:采用HPLC法,色谱柱为Diamonsil C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm),流动相为甲醇-0.2%磷酸溶液(40:60),流速为1.0 ml/min,检测波长为230 nm。结果:芍药苷在0.116 8~1.168 0 μg 范围内线性关系良好($r=0.999 7$),平均回收率为100.3%,RSD为0.92%。结论:该方法灵敏、准确、重复性好,为去纤软肝胶囊的质量控制提供了依据。

[关键词] HPLC;去纤软肝胶囊;芍药苷;含量测定

[中图分类号] R927.2

[文献标识码] B

[文章编号] 1673-7210(2009)05(c)-048-02

Content determination of paeoniflorin in Quxian Ruangan Capsules by HPLC

LI Runwen

(The Sixth People's Hospital of Shenyang, Shenyang 110006, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for the determination of paeoniflorin in Quxian Ruangan Capsules. **Methods:** HPLC was used with Diamonsil C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm) as chromatographic column and methanol-0.2% solution of phosphoric acid(40:60) as mobile phase, the flow rate was 1.0 ml/min and the detective wavelength was set at 230 nm. **Results:** There was a good linearity in the range of 0.116 8-1.168 0 μg($r=0.999 7$), the average recovery was 100.3% with a RSD of 0.92%. **Conclusion:** This method is sensitive, accurate, reproducible, and provides a basis for the quality control of Quxian Ruangan Capsules.

[Key words] HPLC; Quxian Ruangan Capsules; Paeoniflorin; Content determination

去纤软肝胶囊由赤芍、川芎、牡蛎等七味中药组成,具有活血化瘀、软坚散结的功效,临床上用于慢性肝炎及肝硬化的治疗。赤芍为方中主药,其有效成分芍药苷有保肝作用,经药理研究证明,芍药苷能减轻肝细胞变性、坏死及肝纤维化程度,抑制肝癌细胞生长。为确保制剂的质量和疗效,本文建立了芍药苷的HPLC测定方法,可作为该制剂的质量控制指标。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

LC-10A 高效液相色谱仪(日本岛津公司);CSF-1A 超声波发生器(上海超声波仪器厂);ES-120J 电子分析天平(沈阳龙腾电子称量仪器有限公司)。

1.2 试剂

去纤软肝胶囊(沈阳市第六人民医院制剂室,批号为060124.060210.060313.060417.060506.060621.060726.061030.061120.061225);芍药苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号为110736-200526);水为重蒸馏水,甲醇为色谱纯,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Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相为甲醇-0.2%磷酸溶液(40:60);流速为1.0 ml/min;检测波长为230 nm;柱温为35℃。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取芍药苷对照品14.6 mg,置25 ml容量瓶中,加稀乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,精密量取1 ml,置10 ml容量瓶中,加稀乙醇至刻度,摇匀,即得每毫升含芍药苷58.4 μg的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品内容物约1 g,精密称定,置50 ml容量瓶中,加稀乙醇适量,超声处理30 min,放冷,加稀乙醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,经微孔滤膜(0.45 μm)滤过,即得供试品溶液。

2.2.3 阴性对照品溶液的制备 按处方及工艺制备不含赤芍的阴性对照品,再按“2.2.2”项下方法制备阴性对照品溶液。

2.3 系统适用性试验及专属性考察

分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液与阴性对照品溶液各10 μl,注入液相色谱仪中,记录色谱图,见图1。由图可见,芍药苷峰与其他峰基线分离,分离度大于1.5,理论板数按芍药苷峰计算不低于4 000。对照品溶液与供试品溶液主成分峰的保留时间一致,阴性对照品溶液在芍药苷峰相应的位置上无色谱峰,表明其他成分对测定无干扰。

2.4 线性关系考察

分别精密吸取对照品溶液2.5、10、15、20 μl进样,在上述色谱条件下测定,以峰面积值为纵坐标,芍药苷进样量为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程为 $Y=40 232.21X+37 444$, $r=0.999 7$ 。结果表明,芍药苷在0.116 8~1.168 0 μg 范围内线

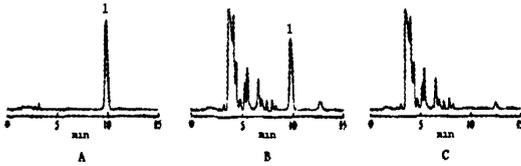


图1 去纤软肝胶囊 HPLC 图

(A.对照品;B.供试品;C.阴性对照品;1.芍药苷)

Fig.1 HPLC chromatograms of Quxian Ruangan Capsules
(A.reference substance; B.sample; C.negative control substance;
1.paeoniflorin)

性关系良好。

2.5 精密度试验

精密吸取对照品溶液 10 μl,连续进样 5 次,测定芍药苷峰面积,得 RSD 为 0.43%,表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

精密吸取同一批号供试品溶液(060313)10 μl,分别于 0、2、4、6、8 h 进样测定,芍药苷峰面积无明显变化,得 RSD 为 0.74%,表明供试品溶液在 8 h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验

取同一批号供试品(060621)6 份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μl 进样,测定芍药苷峰面积并计算含量,结果平均含量为 1.306 mg/粒,RSD 为 0.92%,表明本方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

取已知含量(2.612 mg/g)的同一批号供试品(060621)0.5 g 6 份,精密称定,分别精密加入芍药苷对照品溶液(1.285 mg/ml)1 ml,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μl 进样,测定含量,计算回收率,结果见表 1。

表 1 加样回收测定结果

Tab.1 Results of the sample recovery test

取样量 (mg)	供试品中含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收 率(%)	RSD (%)
0.502 3	1.312	1.285	2.616	101.5		
0.498 6	1.302	1.285	2.595	100.6		
0.495 7	1.295	1.285	2.571	99.3	100.3	0.92
0.494 3	1.291	1.285	2.570	99.5		
0.506 1	1.322	1.285	2.622	101.2		
0.503 1	1.314	1.285	2.596	99.8		

2.9 含量测定

取 10 批供试品各 2 份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μl 进样,按外标法计算芍药苷的含量,结果见表 2。

表 2 供试品含量测定结果

Tab.2 Results of the sample assay

序号	批号	芍药苷含量(mg/粒)			RSD (%)	平均含量 (mg/粒)	SE (mg/粒)
		1	2	平均值			
1	060124	1.384	1.371	1.377 5	0.67		
2	060210	1.402	1.413	1.407 5	0.55		
3	060313	1.343	1.362	1.352 5	0.99		
4	060417	1.241	1.259	1.250 0	1.02		
5	060506	1.276	1.263	1.269 5	0.72	1.33	0.07
6	060621	1.312	1.302	1.307 0	0.54		
7	060726	1.235	1.212	1.223 5	1.33		
8	061030	1.332	1.314	1.323 0	0.96		
9	061120	1.366	1.381	1.373 5	0.77		
10	061225	1.394	1.417	1.405 5	1.16		

长期生产实践证明药品的含量服从正态分布,故置信度 95% 的单侧置信下限为 $(\bar{x} - t_{0.05} \cdot s_x) = (1.330 - 1.833 \times 0.070) = 1.200$ 。由于药材来源、工艺设备及贮存条件均较稳定,所以暂定本品每粒含赤芍以芍药苷计不得少于 1.20 mg。

3 讨论

在确定提取条件时,对提取方法(超声处理、加热回流),提取溶媒(稀乙醇、50% 甲醇、甲醇),提取时间(20、30、40 min)进行了对比实验,结果表明以稀乙醇为溶媒,超声处理 30 min 为最佳,本法操作简便,芍药苷提取完全。在确定流动相时,采用了甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液,分离效果均不理想,最后以甲醇-0.2% 磷酸溶液(40:60)为流动相,达到基线分离、峰形尖锐且保留时间适中。经方法学考察,证明该方法灵敏、准确、重复性好,以芍药苷的含量为指标有效控制了去纤软肝胶囊的质量。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会.中国药典[S].一部.北京:化学工业出版社,2005:109.
- [2] 张孝法.HPLC 法测定逍遥软胶囊中芍药苷的含量[J].中草药,2004,35(10):10-11.
- [3] 李津海,陈双璐.HPLC 法测定产后康膏中芍药苷[J].中草药,2005,36(8):1178-1179.
- [4] 迟强,栾中山.HPLC 测定暖胃舒乐片中芍药苷含量[J].中成药,2007,29(1):附 3-附 5.
- [5] 黄文瑜.RP-HPLC 法测定固经丸中芍药苷的含量[J].中国药师,2007,10(2):115-116.
- [6] 吴高芬,吴小红.HPLC 法测定小儿麻颗粒中芍药苷的含量[J].中国药事,2008,22(7):578-579.
- [7] 陈艳霞.HPLC 测定九味乳安糖浆中芍药苷的含量[J].中成药,2008,30(9):10023-10024.
- [8] 李虹.HPLC 法测定追风透骨丸中芍药苷的含量[J].中国药事,2008,22(11):992-993.

(收稿日期:2009-02-26)