

高效液相色谱法测定七制香附丸中芍药苷的含量*

张 莱¹,郑新元¹,董 敏²,王 杰¹,吕曙华¹

(1. 天津市药品检验所,天津 300070; 2. 天津中医药大学第一附属医院,天津 300193)

摘要 目的:建立高效液相色谱法检测七制香附丸中芍药苷的含量。方法:采用 Sepax Sapphire C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);以乙腈-磷酸盐缓冲液[用0.067 mol/L磷酸氢二钠-0.067 mol/L磷酸二氢钾(5:1)配制成pH为7.4的缓冲溶液](14:86)为流动相;检测波长230 nm;流速1.0 ml/min;柱温40℃。结果:芍药苷在0.155 2~3.104 μg范围内线性良好($r=0.999 9$),平均回收率为101.1%,RSD为0.7%($n=6$)。结论:本方法灵敏度高、准确,重现性良好,可用于七制香附丸中芍药苷的含量测定。

关键词 高效液相色谱法,七制香附丸,芍药苷,含量测定

中图分类号:R927.2

文献标识码:A

文章编号:1006-5687(2010)06-0009-02

七制香附丸为开郁顺气,调经养血的中成药。临床上用于治疗气滞闭经,胸闷气郁,两胁胀痛,饮食减少,四肢无力,腹内作痛,湿寒白带。《卫生部药品标准》中药成方制剂(第3册)为其现行质量标准,尚未收载含量测定方法,相关文献中也未见报道。在2010年版《中国药典》修订工作中,对其质量标准进行了提高、完善,建立了高效液相色谱法测定七制香附丸处方中芍药苷含量的方法,利于今后更好地控制该品种的质量。

1 仪器和试剂

岛津 LC-2010AHT 高效液相色谱仪,紫外检测器,LC-Solution 工作站;芍药苷对照品(中国药品生物制品检定所提供,纯度97.9%,批号110736-200731);七制香附丸(天津中新药业集团股份有限公司乐仁堂制药厂提供,批号D075003、B075004、B075005);中性氧化铝(国药集团化学试剂有限公司);乙腈为色谱纯,水为去离子水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Sepax Sapphire C₁₈ (250 mm×4.6 mm,5 μm)色谱柱;乙腈-磷酸盐缓冲液[0.067 mol/L磷酸氢二钠-0.067 mol/L磷酸二氢钾(5:1)配制成pH为7.4的缓冲溶液](14:86)为流动相;检测波长230 nm;流速1.0 ml/min;柱温40℃;进样量10 μl。理论板数按芍药苷峰计不低于3 000。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液 取芍药苷对照品适量,精密称

定,加稀乙醇制成每1 ml含60 μg的溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液 取本品适量,研细,取约2 g,精密称定,精密加入稀乙醇50 ml,称定重量,超声处理(功率240 W,频率45 kHz)1 h,放冷,再称定重量,用稀乙醇补足减失的重量,摇匀,滤过,精密吸取续滤液20 ml,通过中性氧化铝柱(内径1 cm,1 g),待样品溶液流尽后,继用30 ml甲醇洗脱,收集流出液及洗脱液,蒸干,残渣加甲醇使溶解,转移至10 ml量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过(0.45 μm微孔滤膜),取续滤液,即得。

2.2.3 阴性样品溶液 按处方比例及制备工艺,制成不含白芍药材的空白样品。照“2.2.2”项下方法制成阴性对照溶液,即得。

2.3 阴性对照试验 精密量取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各10 μl,分别注入高效液相色谱仪,记录色谱图。结果显示,供试品中所含其他药材和辅料,均不干扰主成分的测定。见图1。

2.4 线性关系考查 取芍药苷对照品适量,精密称定,加稀乙醇制成每1 ml含0.310 4 mg的对照品溶液。精密量取上述溶液0.5、1、2、5和10 ml,分置5支10 ml量瓶中,加稀乙醇稀释至刻度,摇匀。分别精密量取上述5种浓度的对照品溶液各10 μl,注入液相色谱仪,按“2.1”项下色谱条件分析,测定芍药苷峰面积。以对照品进样量(μg)为横坐标,峰面积值为纵坐标,求得回归方程: $Y = 1.411 \times 10^6 X - 4.682 \times 10^3$, $r = 0.999 9$ 。结果表明,芍药苷在0.155 2~3.104 μg范围内线性良好。

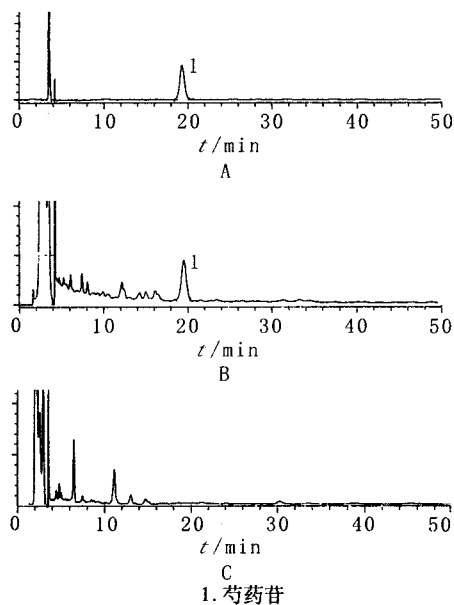


图1 对照品(A)供试品(B)

阴性对照溶液(C)HPLC 色谱图

2.5 重复性试验 取同一批号(批号 B075004)样品,研细,取6份,每份2g,精密称定,按照“2.2.2”项下方法制备溶液,以“2.2.1”项下对照品溶液为对照,按“2.1”项下色谱条件进样,测定每份样品的含量。结果样品中芍药苷的平均含量为0.731 mg/g, RSD为1.1% ($n=6$)。

2.6 精密度试验 取同一批号(批号 B075004)样品,研细,取2g,精密称定,按照“2.2.2”项下方法制备溶液,按“2.1”项下色谱条件,连续进样6次。测得芍药苷峰面积平均值为837 886,峰面积的RSD为1.3% ($n=6$)。

2.7 稳定性试验 取同一批号(批号 B075004)样品,研细,取2g,精密称定,按照“2.2.2”项下方法制备溶液,按“2.1”项下色谱条件,分别在0、4、8、12、16和24h进样测定。结果测得芍药苷峰面积平均值为840 347,峰面积的RSD为0.98% ($n=6$)。

2.8 加样回收率试验 取同一批号(批号 B075004)样品,研细,取6份,每份1g,精密称定,再精密加入芍药苷对照品稀乙醇溶液(0.015 52 mg/ml)50 ml,按照“2.2.2”项下方法制备溶液,按“2.1”项下色谱条件的

测得,计算回收率。结果芍药苷的平均回收率为101.1%,RSD为0.7%。结果见表1。

表1 芍药苷加样回收率试验结果($n=6$)

编号	称样量 (g)	样品含量 (mg)	对照品加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)
1	1.002 6	0.733	0.776 0	1.516	100.90
2	1.001 7	0.732	0.776 0	1.509	100.13
3	1.003 8	0.734	0.776 0	1.528	102.32
4	1.002 6	0.733	0.776 0	1.519	101.29
5	1.002 2	0.733	0.776 0	1.517	101.03
6	1.002 3	0.733	0.776 0	1.518	101.16

2.9 样品测定 取该厂家3个批号的样品,按照“2.2.2”项下方法制备溶液,以“2.2.1”项下对照品溶液为对照,按“2.1”项下色谱条件进样,测定样品中含量。结果见表2。

表2 样品含量测定结果($n=2$)

批号	平均含量(mg/g)
D075003	0.890
B075004	0.736
B075005	0.887

3 讨论

因供试品以稀乙醇溶液超声处理提取后的溶液直接进样时,色谱图中杂质峰较多,干扰芍药苷的测定,且长时间进样分析对色谱柱损伤较大,试验中使用了中性氧化铝柱对供试品溶液进行预处理,将供试品溶液中的芍药苷进行了有效的富集、纯化,消除了杂质峰的干扰。同时,对氧化铝柱洗脱溶剂体积进行了考查。①“2.2.2”项下供试品溶液。②“2.2.2”项下供试品溶液制备过程中,经30 ml 甲醇洗脱后的中性氧化铝柱,继用20 ml 甲醇洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加甲醇使溶解,转移至2 ml 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过。分别取上述①和②项下供试溶液,测定芍药苷含量。结果显示,后20 ml 甲醇洗脱液色谱中未检出芍药苷,30 ml 甲醇即可将样品溶液中目标物(芍药苷)洗脱完全。