

高效液相色谱法测定中肝一号合剂中芍药苷的含量

翁琳 芦柏震(杭州 310022 浙江省肿瘤医院)

摘要 目的:建立反相高效液相色谱法测定中肝一号合剂中芍药苷含量的方法。方法:用 C_{18} - ODS 柱,以甲醇 - 水(30:70)为流动相,检测波长 232 μ m。结果:平均回收率 97.97%, (RDS = 0.572, $n = 4$) 结论:该方法简便、快速、灵敏、重现性好。

关键词 芍药苷;高效液相色谱

Determination of Paeoniflorin in Zhonggan Oral Liquid by HPLC

Weng Lin, Lu Baizhen(*Zhejiang Cancer Hospital 310022*)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** A RP-HPLC method was established for the determination of paeoniflorin in Zhonggan oral liquid. **METHOD:** The C_{18} column was used. The mobile phase was consisted of methanol-water (30:70). The detection wavelength was 232nm. **RESULTS:** The average recoveries were 97.97% (RDS = 0.572, $n = 4$) for paeoniflorin. **CONCLUSION:** The method was simple, rapid, sensitive and reproducible.

中肝一号合是我院自制的中药合剂,由炒白芍、焦三棱、七叶一枝花、三叶青、白花蛇舌草等组成。有活血化瘀、行气健脾、清热解毒、消痞攻坚等功效,经我院多年使用,临床效果较好。我们用 HPLC 法对其炒白芍中芍药苷的含量进行了检测,现报告如下:

1 仪器和试剂

HP1100 系统;二极管阵列检测器;自动进样器;数据的

采集、处理由 HP Chem Station 完成;芍药苷标准品由中国药品生物制品鉴定所提供(供含量测定用);甲醇:色谱纯;无水乙醇:分析纯;水:滤过重蒸馏水;中肝一号合剂:本院制剂室自制;中肝一号合剂阴性对照品:去掉处方中的炒白芍后,照生产工艺制备得到的中肝一号合剂空白溶液,本院制剂室自制。

2 色谱条件

流动相:甲醇 - 水(30:70) 固定相: C₁₈ - ODS 柱, 5 μ m, 12.5 $\times$ 4 mm 检测波长: 232nm, 进样量: 4 μ l, 测定温度: 室温, 流速: 1 ml/ min。

3 测定波长的确定

取含量为 128 μ l/ ml 的芍药苷标准液 4 进样, 在 200 μ l - 400 μ l 范围内扫描, 结果, 在 232 μ m 处有最大吸收。光谱图见图 1。

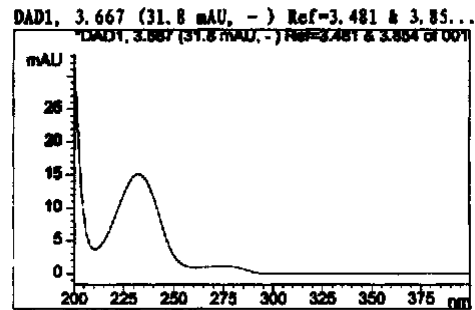


图 1 芍药苷的紫外吸收光谱

4 标准曲线的建立

精密称取干燥后(80℃至恒温)的芍药苷 16.0 mg, 置 25 ml 容量瓶中, 用无水乙醇溶解后定容(640 μ l/ ml), 并分别精密量取该标准液适量稀释成含芍药苷 512 μ l/ ml 384 μ l/ ml、256 μ l/ ml 128 μ l/ ml 的系列标准溶液。分别取上述标准液 4 μ l 进样, 以峰面积对标准品浓度作图, 结果显示, 在 128 μ l - 640 μ l 范围内, 芍药苷的峰面积与浓度成良好线性关系。

回归方程: $A = 0.7411 + 3.0458C$ $r = 0.9991$

5 精密度试验

取含量为 256 μ g/ ml 的芍药苷标准溶液 5 份, 按上述色谱条件测定含量, 结果见表 1。

表 1 精密度试验结果(n = 5)

	平均值	RDS
面积(mAu)	760.528	0.252 %
保留时间(min)	3.660	0.053 %

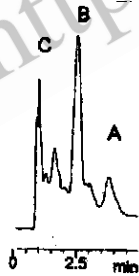


图 2 实际样品

6 样品测定

精密量取中肝一号合剂 2 ml, 4 份(4 批), 分别加无水乙

醇 10 ml, 滤过, 残渣再加无水乙醇 10 ml, 滤过, 合并两次滤液, 置 25 ml 量瓶中, 用无水乙醇稀释至刻度, 微孔滤膜滤过, 取滤液 4 μ l 进样, 测定芍药苷含量, 结果四批中肝合剂中芍药苷的平均含量为 254 μ l/ ml。色谱图见图 2

7 加样回收试验

精密量取中肝合剂阴性对照品 4 份, 每份 2 ml, 分别加入芍药苷对照品 13.08 mg、6.25 mg、3.22 mg、1.58 mg, 4 份样品同时用无水乙醇处理, 方法同上, 测定芍药苷含量。结果平均回收率 97.97 %, RDS 为 0.572 %, n = 4。色谱图见图 3



图 3 加样回收样品

8 阴性对照试验

取空白芍药样品, 同上操作, 结果, 在上述色谱条件下, 在芍药苷出峰处无干扰峰出现。色谱图见图 4

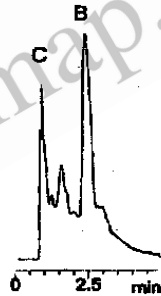


图 4 阴性对照样品

9 流动相比比例优化

我们观察了几个不同流动相比对比芍药苷分离效果的影响, 发现甲醇比例大, 出峰快, 但与其他杂质分离不好; 甲醇比例小, 分离效果较好, 但峰形平坦; 而当两者比例为 30: 70 时, 既能使芍药苷与其他杂质有效地分离, 又有较好的峰形, 故我们选择甲醇: 水(30: 70)作流动相。

10 结论

通过对 HPLC 法测定中肝一号合剂中芍药苷含量的方法学考察, 表明方法稳定, 重现性好, 快速灵敏, 可作为中肝一号合剂产品质量及生产工艺的质量指标。

收稿日期: 2001 - 02 - 06