

反相高效液相色谱法测定壮骨宁中芍药甙的含量

谢茹嘉 彭建和¹

(中国药科大学中药制剂学教研室; ¹分析计算中心,南京210009)

摘要 采用 RP-HPLC 测定复方制剂壮骨宁中芍药甙的含量。方法快速、简单、精密。采用 C₁₈ 柱和 ODS 柱,甲醇-异丙醇-1%醋酸(19.9:1.6:78.5)为流动相,流速为 1 ml/min,检测波长为 230 nm。芍药甙的保留时间约为 10 min,阴性干扰成分得到较好分离。标准曲线的相关系数为 0.9999,平均回收率为 100.17%,变异系数为 0.46%。

关键词 高效液相色谱; 含量测定; 芍药甙

白芍具有养血柔肝、缓急止痛等功效^[1]。其主要有效成分为芍药甙。壮骨宁复方制剂以白芍为主,佐以牛膝、狗脊等,用于治疗腰椎等骨质增生,疗效确切。本文运用 RP-HPLC 测定了制剂中芍药甙的含量,有效地消除了其它成分的干扰,建立了含量测定的方法,获得了满意的结果。

1 实验部分

1.1 仪器与药品

色谱仪: HP1090L, DAD 检测器; 积分仪: HP3396A; 芍药甙对照品, 中国药品生物制品研究所; 壮骨宁冲剂, 本室提供。

1.2 色谱条件

色谱柱: 20 cm × 4.6 mm, 装填 Hypersil ODS; 预柱 C₁₈ 3 cm × 4.6 mm; 流动相: 甲醇-异丙醇-1%醋酸(19.9:1.6:78.5); 流速: 1 ml/min, 柱温: 室温; 检测: UV 230 nm。

2 结果

2.1 样品制备与方法

精密称取芍药甙对照品适量, 乙醇溶解, 作为对照品液(A)。精密称取该冲剂约 0.5 g(含白芍约 0.3 g), 加 50% 乙醇, 超声提取 30 min^[2], 滤液置 25 ml 量瓶中, 加 50% 乙醇至刻

度, 摆匀, 作为样品液(B)。另精密称取阴性样品(去白芍)约 0.5 g, 制备法同样品, 作为阴性对照液(C), 称取白芍的 50% 乙醇提取物适量, 溶解后作为单味药对照液(D)。吸取上述 4 种溶液各 20 μl, 分别注入色谱仪, 结果见图 1。

2.2 标准曲线的制备和校正因子测定

精密称取芍药甙对照品适量, 乙醇溶解, 配成五种浓度的标准品溶液, 吸取溶液 20 μl, 分别注入色谱仪, 以浓度对峰面积进行线性回归, 建立线性回归方程及线性范围:

$$A = 134467 + 60405C, r = 0.9999 (n = 5)$$

$$\text{校正因子 } \bar{f} = \frac{C}{A} = 1.62 \times 10^{-5}$$

2.3 回收率

精密称取芍药甙对照品, 加入到样品中, 提取制备同样品液, 吸取溶液 20 μl, 注入色谱仪, 计算回收率。结果见表 1。

Tab 1. Data of recovery of paeoniflorin standard

Added, μg	Found, μg	Recovery, %	Average recovery, %	CV, %
2.2464	2.2658	100.86	100.17	0.46
2.4192	2.4239	100.19		
2.5920	2.5859	99.76		
2.7648	2.7532	99.58		
2.9376	2.9502	100.43		
3.1104	3.1167	100.20		

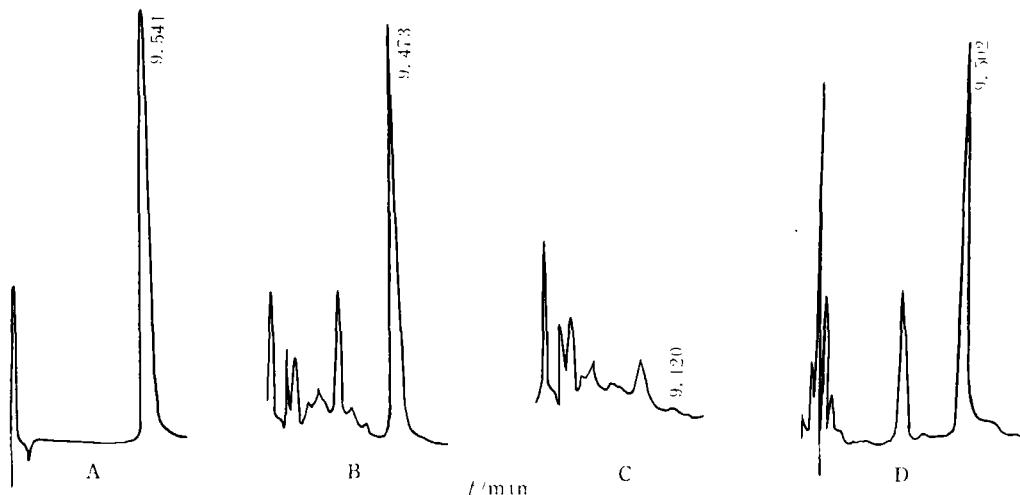


Fig 1. HPLC showing the separation of (A) paeoniflorin standard, (B) sample, (C) interference compositions and (D) paeonia lactiflora

2.4 精密度考察

将1份样品溶液,进样6次,进样量均为20 μ l,结果见表2。

Tab 2. Comparison of peak areas among six injections of one sample

No.	Peak area, A	\bar{A}	CV, %
1	9361245	9301302	0.67
2	9206899		
3	9350064		
4	9284561		
5	9256453		
6	9348583		

2.5 稳定性实验

将同一份样品,于不同时间注入色谱仪,结果见图2。

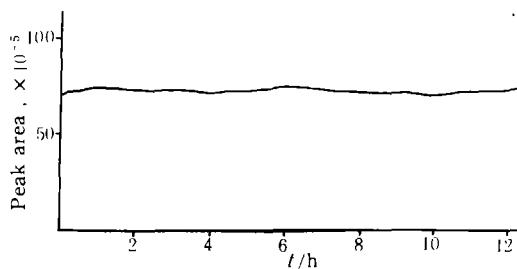


Fig 2. The peak area of different time obtained injected 20 μ l the same sample

2.6 样品的测定

精密称取样品0.5 g,制备同回收率项,按下式计算,结果见表3。

$$\text{芍药甙的含量 mg/g} = \bar{f} \times A_{\text{样品}} \times 25/W$$

W:样品的重量; f :平均校正因子; A :样品的峰面积

Tab 3. The content of different samples

No.	Peak area \bar{A} ($n=3$)	Content, mg/g
1	9671682	7.86
2	9681460	7.60
3	10280920	7.82
4	9834985	7.70
5	9397450	7.52
6	9622370	7.68

3 讨论

中药复方制剂组分多、成分复杂,HPLC具有很好地分离效果,为有效的含量测定办法。在无合适内标的情况下,常用外标法。从实验结果可知,本方法简便、快速、重现性好。从图1可见,文中所用流动相较好地去除了干扰成分对芍药甙测定的影响,即在芍药甙保留时间处无干扰峰出现。稳定性试验表明样品在12 h内稳定。

参考文献

1 黄雅榕. 中药学. 上海: 上海科技出版社, 1989. 21

2 李章万, 刘三康, 郭平等. 高效液相色谱法测定芍药及 14 种含白芍药成药中芍药甙的含量. 药物分析杂志, 1990, 10(6): 331

A Reversed-Phase HPLC Method for the Determination of Paeoniflorin Content

Xie Rujia, Peng Jianhe¹¹Division of Pharmaceutics, Analysis and Computer Center, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009

A rapid, simple and sensitive RP-HPLC method is described for routine determination of paeoniflorin, in a compound preparation. The chromatographic system involves a hypersil ODS column with 5 μ m particle size, a C₁₈ prepared column, and an UV spectrophotometric detector set at 230 nm. The mobile phase composed of methanol-isopropanol-1% acetic acid (19.9:1.6:78.5) and a flow rate of 1 ml/min are used. The results show that the relative coefficient of standard curve is 0.9999, the average recovery and CV are 100.17% and 0.46%, respectively. The interference components can be separated by the method.

Key words RP-HPLC; Determination of content; Paeoniflorin

【文摘 036】 HPLC 测定兔静注吡洛地尔血药浓度及药物动力学参数 戴德哉, 卢毅, 王澄淑等. 中国医院药学杂志, 1994, 14(4): 154~157

应用 RP-HPLC 测定兔静注吡洛地尔 (15 mg/kg) 血药浓度, 样品用正庚烷提取, 流动相以 10% 三乙胺-甲醇液 (甲醇-水 = 9:1) = 5:95。紫外检测波长为 254 nm, 回收率 81.4%, 日内和日间的 RSD 值为 2.4%, 3.5%。最低检测血浓为 20 ng/ml。用 3P87 程序拟合为二室模型。 $\alpha = 3.08 \text{ h}^{-1}$, $\beta = 0.18 \text{ h}^{-1}$, $t_{1/2} = 4.07 \text{ h}$, $K_{12} = 0.91 \text{ h}^{-1}$, $K_{10} = 0.61 \text{ h}^{-1}$, $V_e = 11.45 \text{ L/kg}$, $CL = 6.73 \text{ L/(kg} \cdot \text{h)}$, $AUC = 2.21(\mu\text{g} \cdot \text{h})/\text{L}$ 。

【文摘 037】 马尾树中两个非对映异构的三萜与木脂素聚合物和与它们生源相关的三萜咖啡酯 姜志宏, 田中隆, 河野功. *Tetrahedron Letters*, 1994, 35(13): 2031~2034

从马尾树树皮的乙醇提取物中分离到 3 个新化合物, 即 27-caffeoxy-3 β -hydroxyolean-12-en-28-oic acid (1)、rhoipteleic acid A (2)、rhoipteleic acid B (3), 通过光谱和化学方法确定了它们的结构式, 化合物 (2)、(3) 是一对非对映异构体, 为首次报道的三萜与木脂素的聚合物。此外还以化合物 (1) 为前体仿生合成了化合物 (2) 和 (3)。