

# HPLC 法测定颈椎灵片中芍药苷含量

★ 杨红艳 (湖北恩施州药品检验所 恩施 445000)

关键词:颈椎灵片;质量标准;芍药苷;HPLC

中图分类号:R 284.1 文献标识码:B

颈椎灵片是湖北来凤县中医院制备的自制制剂。由葛根、羌活、延胡索、白芍等制备而成的片剂。临床上用来治疗神经根型和颈型的颈椎病。为了有效地控制产品质量,方中白芍中的芍药苷为解痉、镇痛、抗炎的有效成分,本实验用 HPLC 法进行了含量测定,结果具有较好的分离效果、阴性无干扰,方法重现性好,可作为其质量的控制指标。

## 1 仪器、试剂与样品

日立 L-7100 型高效液相色谱仪。检测器:L-7420 紫外检测器。色谱工作站:T-2000。电子天平(FA1604S),KT-250 型超声波清洗机(济宁特种超声电子有限责任公司 50HZ,250W),甲醇、乙腈为色谱纯,水为重蒸馏水。其它均为分析纯;芍药苷对照品(批号:110736-200422)由中国生物制品检定所提供;颈椎灵片由湖北来凤县中医院提供。

## 2 含量测定

### 2.1 色谱条件

以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,以乙腈-0.1%磷酸溶液(14:86)为流动相;检测波为 230 nm。

### 2.2 试验条件的选择

2.2.1 流动相的选择 曾试用乙腈-水(15:85) 甲醇-水(28:72),结果均分离不佳,改用乙腈-0.1%磷酸溶液,在此条件下,主峰分离效果好,能有效分开杂质峰,芍药苷的理论板数在 4 000 以上,故规定芍药苷峰的理论板数不低于 4 000。

2.2.2 检测波长的选择 取芍药苷对照品溶液在 200~600 nm 范围内扫描,结果在 230 nm 波长有最大吸收,故作为检测波长。

2.2.3 提取溶剂与提取方法的选择 取本品 0.5 g,加入甲醇、50% 甲醇、70% 乙醇各 25 ml,超声处理 45 分钟,滤过,取续滤液作为供试品溶液。按上述条件进样,结果均提取杂质多,干扰大,不能得到很好的分离。为了除去杂质干扰,根据芍药苷性质,精密称取样品 0.5 g,置具塞锥形瓶中,精密加入 70% 甲醇 50 ml,密塞,称定重量,超声处理 45 分钟,放冷,再称定重量,用 70% 甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 25 ml,蒸干,残渣加水 25 ml 微热使溶解,放冷,用水饱和的正丁醇提取 3 次,每次 25 ml,合并正丁醇液,回收溶剂至干,残渣加甲醇适量使溶解,转移至 5 ml 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45  $\mu$ m)滤过,取续滤液,即得。

对照品溶液的制备:精密取芍药苷适量,加甲醇制成每 1 ml 含 20  $\mu$ g 的溶液,作为对照品溶液。

2.2.4 提取时间考察 精密取本品 0.5 g,按供试品溶液的制备方法考察 70% 甲醇提取,超声时间为 40、45、50、55 分钟时,芍药苷含量分别为 0.264 7、0.267 4、0.267 8、0.267 2 mg/片。结果表明超声处理 45 分钟,含量不再增加,提取完

全,故确定为 45 分钟。

### 2.3 线性关系的考察

精密量取芍药苷对照品溶液(0.0437 7 mg/ml)1、2、4、6、8、9 ml,分别置 10 ml 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,分别吸取 10  $\mu$ l,按上述色谱条件测定峰面积,得回归方程, $y = 993\,612.53x - 1\,425.67$ , $r = 0.999\,9$ ,芍药苷在 0.043 77~0.393 9  $\mu$ g 之间与峰面积呈良好的线性关系。

### 2.4 精密试验

精密吸取对照品溶液 10  $\mu$ l,注入液相色谱仪测定 5 次,求得 RSD 值为 1.30%,说明精确度良好。

### 2.5 重复性试验

取同批样品,按供试品制备方法制备供试品溶液 5 份,按上述测定方法进行测定,含量测定结果稳定,RSD 值为 0.88%。

### 2.6 空白试验

空白溶液的制备按处方中药味的比例,自配不含白芍的群药,按工艺制成空白制剂,按供试品溶液制备方法制备空白溶液,按上述方法测定,结果空白溶液与芍药苷对照品在相同保留时间处未显示色谱峰。

### 2.7 回收试验

采用加样回收法试验,取已知含量的供试品 5 份,约 0.25 g 精密称定,置具塞锥形瓶中,分别准确加入芍药苷对照品,再按供试品溶液的制备方法制备供试品溶液,按上述条件进行检测,平均回收率为 98.08% ( $n = 5$ )。

### 2.8 样品测定

分别取对照品溶液与供试品溶液各 10  $\mu$ l,注入液相色谱仪,测定,结果见表 1。

表 1 样品的含量测定结果 ( $n = 2$ )/mg·片<sup>-1</sup>

| 批号 | 芍药苷含量 | 平均含量 |
|----|-------|------|
| 1  | 0.26  |      |
| 2  | 0.29  | 0.27 |
| 3  | 0.25  |      |

根据测定结果,考虑药材产地、加工炮制、储藏等因素,含量定为每片含白芍以芍药苷( $C_{23}H_{28}O_{11}$ )计,不得少于 0.2 mg。

## 3 讨论

方中白芍中的芍药苷为有效成分,参考文献<sup>[1~2]</sup>,并通过试验,拟定了制剂中芍药苷的 HPLC 法。该方法能有效分离,且阴性无干扰,可作为该制剂的质量控制指标。

### 参考文献

- [1] 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 68.
- [2] 郭维儿,倪晨. HPLC 测定复元浓缩片中芍药苷的含量[J]. 中成药, 2004, 26(8).

(收稿日期:2007-04-05)