

高效液相色谱法测定痔速宁胶囊中芦丁含量

王明星, 于秀华, 李焕荣, 黄晓巍
(吉林省中医院, 吉林 长春 130021)

摘要:目的 建立一种简便的测定痔速宁胶囊中芦丁含量的方法。方法 色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱 (200 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-3% 冰醋酸 (40:60), 柱温 30℃, 流速 1 mL/min, 检测波长 254 nm。结果 芦丁进样量线性范围为 0.778 ~ 5.820 μg, $r=0.9999$, 加样回收率为 98.2%, RSD 为 1.35%。结论 该方法操作简便, 分离效果理想。

关键词: 痔速宁胶囊; 芦丁; 高效液相色谱法; 含量测定

中图分类号: R284.1, R286.0

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2006)08-0028-01

痔速宁胶囊由白蕊、槐花、五倍子等 5 味中药组成, 白蕊为方中君药, 有效成分为没食子酸及苷类、黄酮类, 但五倍子也含没食子酸及鞣质类, 缺乏专属性, 槐花虽为方中臣药, 但成分清楚, 且已被《中国药典》收载, 故可通过测槐花中芦丁含量来更有效地控制本产品质量。

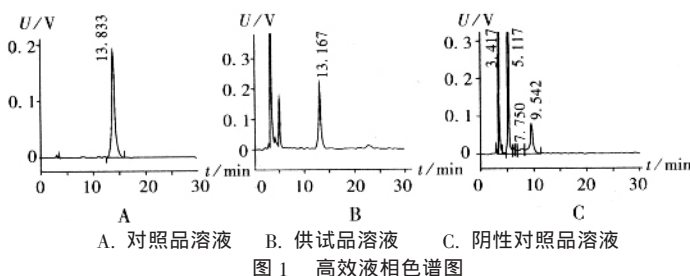
1 仪器与试剂

LC-2010A 型高效液相色谱仪 (日本岛津), SPD-10AVP 检测器, Class-VP 工作站。痔速宁胶囊 (自制); 芦丁对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号为 0080-9705, 供含量测定用); 其他试剂均为色谱纯或分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C₁₈ 柱 (200 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-3% 冰醋酸 (40:60); 柱温: 30℃; 流速: 1 mL/min; 检测波长: 254 nm。在此色谱条件下, 色谱图见图 1。



2.2 溶液制备

精密称取芦丁对照品 9.7 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得对照品溶液。取装量差异项下的本品 5 片, 除去糖衣, 研细, 精密称取 0.5 g, 置索氏提取器中, 加甲醇 80 mL, 回流提取 5 h, 回收甲醇至干, 残渣加甲醇 3 mL 使溶解, 加 1 g 聚酰胺粉 (30~60 目), 拌匀, 置水浴上蒸干, 研细, 上聚酰胺柱 (30~60 目, 3 g, 水预洗 150 mL, 柱长 7.5 cm, 内径 1.6 cm), 用水 90 mL 洗脱, 弃去水溶液, 再用 40% 乙醇 200 mL 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣加甲醇溶解于 25 mL 量瓶中, 并用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得供试品溶液。取处方中除槐花以外的各药材适量, 按供试品的制备方法制成空白样品, 再按供试品溶液的制备方法制成阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察

标准曲线绘制 分别精密吸取芦丁对照品溶液 2, 5, 10, 12, 15 μL, 注入液相色谱仪, 测定。以峰面积积分值为纵坐标、对照品进样量为横坐标绘制标准曲线, 其回归方程为 $Y=1977972.2096X+150262.4987$, $r=0.9999$ ($n=5$), 芦丁进样量线性范围为 0.778 ~ 5.820 μg。

精密度试验 取同一供试品溶液, 连续进样 5 次, 进样量 5 μL, 依法测定。结果的 $RSD=0.83\%$, 表明仪器精密度较好。

稳定性试验 取同一供试品溶液, 进样 5 μL, 在 0, 2, 4, 12, 24 h 时测定, 结果含量的 RSD 为 1.38%, 表明溶液在 24 h 内稳定。

重现性试验 取批号为 020923 的样品共 5 份, 依法测定。结果样品中芦丁含量分别为 11.358 0, 11.481 2, 12.014 3, 11.828 4, 11.545 0 mg/片, RSD 为 2.31%, 表明方法重现性好。

加样回收试验 取已知含量的样品 11.822 1 mg/片, (片重 0.301 2 g, 39.25 mg/g) 适量, 除去糖衣, 研细, 精密称取 0.2 g, 加芦丁对照品 1 mL (浓度为 10.12 mg/mL), 混匀, 依法测定, 结果见表 1。

表 1 加样回收试验结果

样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
3.163 6	1.003 1	4.149 6	98.30		
3.206 8	1.112 5	4.309 5	99.12		
3.366 1	1.507 2	4.837 9	97.65	98.19	0.95
3.270 3	1.536 8	4.795 3	99.23		
3.030 1	2.051 7	5.014 5	96.72		
2.890 4	1.987 2	4.840 0	98.11		

2.4 样品含量测定

取样品依法测定, 结果批号为 020924, 020925, 020926 的 3 批样品中芦丁含量分别为 11.018 5, 11.207 5, 12.556 5 mg/片。考虑到药材产地、贮藏等条件的影响, 规定每片含槐花以芦丁计不得少于 8 mg。

3 讨论

3.1 槐花主要含黄酮类化合物, 芦丁为其主要成分。考虑到芦丁不溶于水并参考多篇文献, 曾考察了用乙醇、稀乙醇等溶剂提取芦丁, 但所测得的含量均低于甲醇提取法。经过预试验对超声法、回流提取法及索氏提取器法进行比较, 用本方法提取的物质含量高且杂质干扰少, 故选用甲醇作溶剂的索氏提取器法提取。

3.2 曾考察了甲醇用量 (60, 80, 100 mL) 及用索氏提取器提取 4, 5, 6 h 后的提取液, 结果溶剂用量 80 mL 提取的含量最高, 而提取 5 h 后的含量大大高于提取 4 h 后, 提取 6 h 后含量基本没有增加。考虑到其含量的可靠性及试验的可操作性, 最后选择提取时间为 5 h。

3.3 含量测定中采用聚酰胺柱法效果较为理想, 因其可以有效地保护色谱柱, 除去其他杂质, 且能达到良好的分离效果。

3.4 本方法操作简便、准确、重现性好, 且其他成分对所测成分无干扰, 故可作为本制剂的质量控制方法。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (一部) [M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 291.
- [2] 陈发奎. 常用中草药有效成分含量测定 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997: 751.
- [3] 王宝葵. 中成药质量标准与物质研究 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 23-31.
- [4] 孙文基. 天然药物成分定量分析 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2000: 396.

(收稿日期 2005-06-17; 修回日期 2005-09-07)