

妇炎康片中芍药甙的含量测定

钟镜金 刘中秋 周莉玲(广州中医药大学 广州 510407)

妇炎康片由赤芍、丹参、黄柏、当归、三棱等 13 味中药组成,具有活血祛瘀,消坚散结等功效。其方中赤芍为主药,赤芍的主要成分为皂甙类,其中芍药甙为主要的活性成分。为控制妇炎康片中的质量,除对方中主要的 8 味中药进行薄层层析鉴别外,着重建立了芍药甙的含量测定方法。通过实验比较研究,选择了采用超声提取样品,大孔树脂柱和中性氧化铝柱分离、纯化提取样品,薄层层析展开,扫描测定。本法具有简便快速、灵敏度高、重现性好、回收率高、干扰少等优点。现将实验方法报告如下。

1 实验部分

1.1 仪器及试剂 岛津 CS-920 型薄层扫描仪(日本);CQ-250 型超声波清洗器(上海超声波仪器厂);日立 UV-200 型紫外可见分光光度计(日本)。芍药甙:(中国药品生物制品检定所)批号:9402-0730,纯度:99.8%;硅胶 G(青岛海洋化工厂);D101 型大孔树脂(天津橡胶厂);中性氧化铝(120~160 目,广州化学试剂厂);所用试剂均为分析纯。妇炎康片(市售),由珠海东鑫制药有限公司生产。

1.2 方法与结果

1.2.1 薄层扫描条件 将样品供试液与对照液分别点于同一含

0.3%羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上,以氯仿:乙酸乙酯:甲醇:甲酸(8:1:2:0.4)为展开剂,上行展开

10cm,取出,挥干溶剂,用 10%硫酸乙醇液喷雾,105℃烘 5min 至斑点清晰。在样品和赤芍药材的

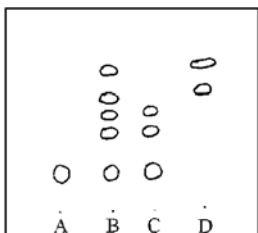


图 1 薄层层析图谱

A 芍药甙对照品

B 样品液

C 赤芍药材液

D 缺赤芍空白对照液

色谱中有与芍药甙对照品相应的斑点,而缺赤芍阴性对照液色谱中与对照品相应位置上无斑点,证明样品中是芍药甙,结果见图 1。扫描波长 $\lambda_s=520\text{nm}$,反射式锯齿扫描,线性参数 $S_x=2$,狭缝 $1.2\text{mm} \times 1.2\text{mm}$, $x=9$, $y=15$ 。

1.2.2 稳定性试验 定量吸取 1mg/ml 的芍药甙乙醇对照液 1.0、2.0 μl ,分别点于同一薄层板上,展开,显色后于不同时间内扫描,观察斑点面积积分值,测试结果表明,芍药甙在 30min 内稳定,若显色后放置干燥器密封,在 3h 内稳定。

1.2.3 精密度试验 在同一薄层板上,分别点浓度 1mg/ml 的芍药甙对照液 2 μl ,共 10 个斑点展开,取出,晾干,测定面积积分值,得均值 2463, $RSD=2.86\%$;又于另一薄层板同法测得均值为 2516, $RSD=2.57\%$ 。

1.2.4 标准曲线的绘制 定量吸取 1mg/ml 的芍药甙对照液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 μl ,分别点于同一薄层板上,展开、取出、晾干、显色、扫描,以斑点面积积分值为纵坐标,点样量(μg)为横坐标,得一直线,线性回归方程为 $Y=1433+2136x$, $r=0.9993$,线性范围为 0.77~3.53 μg 之间。

1.2.5 测定波长选择 吸取供试液和对照液各 2 μl ,分别点于同一薄层板上,按上述条件展开,显色后,在 400~600nm 范围内进行光谱扫描,结果 2 者均在 520nm 处有最大吸收,故选定 $\lambda_s=520\text{nm}$ 。

1.2.6 样品测定 取本品 100 片,剥去糖衣,研细,混匀,于 80℃干燥至恒重,置干燥器中备用。取粉末 5g,精密称定,加蒸馏水 60ml,超声提取 45min,离心,滤过,残渣用适量蒸馏水洗涤 3 次,合并水液,上已处理好的

大孔树脂柱(1.5cm×30cm),流速 1~2ml/min,先用蒸馏水约 100ml 洗至流出液无色,再用 50ml 5%乙醇洗脱,然后用 20%乙醇 100ml 洗脱,收集 20%乙醇洗脱液,蒸干,加适量蒸馏水,用 20ml 水饱和正丁醇提取 3 次,合并正丁醇液,蒸干,残渣加 2ml 乙醇溶解,拌入 0.5g 中性氧化铝,搅匀,蒸干,装入预先填充好的中性氧化铝柱(120~160 目 2g,内径 1cm),用甲醇 60ml 洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣用乙醇定容至 1.0ml,作供试液。按上述方法测定,采用外标二点法计算,结果见表 1。

1.2.7 重现性试验 取同一批号样品分别按上述方法测定 5 次,测得平均值 $\bar{x}=3.36$, $RSD=2.47\%$ 。

表 1 样品测定结果($\bar{x}\pm s, n=3$)

批次	芍药甙含量(mg/g)	RSD(%)
961102	3.50±0.06	2.01
961120	3.40±0.07	2.12
961121	3.10±0.01	3.46

1.2.8 回收率试验 取样品约 5g,精密称定,每份精密加入 0.77mg 和 1.54mg 芍药甙对照品,按样品测定方法测定,结果见表 2。

表 2 芍药甙回收率试验结果

样品值 (mg)	标准品值 (mg)	测得值 (mg)	回收率 (%)	($\bar{x}\pm s$)%	RSD%
16.48	0.77	16.51	96.69		
17.17	0.77	17.23	96.02		
17.15	0.77	17.30	96.53	95.94±1.39	1.45
17.61	1.54	18.21	95.07		
17.84	1.54	18.24	94.10		
17.04	1.54	18.25	98.21		

1.2.9 超声提取时间的选择 取同 1 样品 5g,精密称定,分别采用不同时间超声提取,其余操作同 1.2.6,结果见表 3。

表 3 超声波提取时间比较($\bar{x}\pm s, n=3$)

时间(min)	芍药甙含量(mg/g)	RSD(%)
15	2.48±0.05	1.90
30	3.02±0.05	1.67
45	3.41±0.05	1.36
60	3.38±0.03	0.91

经统计学处理,超声提取 30min 和 45min 含量有显著性差异($P<0.05$),提取 45min 和 60min 含量无显著性差异($P>0.05$),故实验采用 45min 超声提取。

2 讨论

2.1 实验采用超声提取芍药甙,具有提取完全、快速、操作方便等优点。

2.2 据文献报导^[1,2],在赤芍的复方制剂中分离芍药甙,大多采用正丁醇萃取,中性氧化铝或大孔树脂柱单独处理。但因本方组方复杂,成分间干扰较大,实验发现单独采用文献的某种方法,经薄层层析后,相邻斑点分离度较差,未达到薄层扫描要求,因此,本实验采用超声提取、过大孔树脂柱和中性氧化铝柱 3 者结合起来处理样品,其薄层分离度好,无干扰,符合薄层扫描要求,回收率为 95.94%, $RSD=1.45\%$ 。

2.3 样品用大孔树脂富集,对蒸馏水和 5%乙醇的洗脱液,用硫酸-醋酐检查其流出液,反应呈阴性,经薄层层析亦未能检出芍药甙,说明水和 5%乙醇除去了杂质,富集了含测成分。

参考文献

- 何丽一. 芍药甙含量测定方法. 药学通报, 1983,18(4):38
- 中华人民共和国药典委员会. 中国药典薄层色谱彩色图集. 广州:广东科技出版社,1993. 101

(收稿:1998-02-04)