

仲景胃灵片中芍药苷的含量测定

林生文¹, 李玮玲², 朱炳辉¹

(1. 广东省药品检验所, 广东 广州 510180 2. 中国药科大学, 江苏 南京 210038)

摘 要: 采用 SPE- 高效液相色谱法测定仲景胃灵片中芍药苷的含量, 以甲醇- 水(体积比 30: 70)为流动相, Intersil ODS(3) 柱(250 mm×4. 6 mm, 5 μm) 为固定相, 流速为 1 mL/min, 检测波长为 230 nm; 芍药苷的测定在 11. 55~ 92. 40 mg/L 范围内线性关系良好, 平均回收率为 99. 9%, RSD 为 1. 6%; 方法简单, 灵敏度高, 可用于仲景胃灵片中芍药苷的含量测定。

关键词: 仲景胃灵片; 芍药苷; SPE; 高效液相色谱法

中图分类号: O657. 72; R975. 1 文献标识码: A 文章编号: 1004- 4957(2004) 01- 0114- 03

Determination of paeoniflorin in Zhong Jing Wei Ling Tablets

LIN Sheng_wen¹, LI Wei_ling², ZHU Bing_hui¹

(1. Guangdong Institute for Drug Control, Guangzhou 510180, China;

2. China Pharmaceutical University, Nanjing 210038, China)

Abstract: A new SPE- HPLC method for the determination of paeoniflorin in Zhong Jing Wei Ling tablets is proposed. An Intersil ODS(3) column(250 mm×4. 6 mm, 5 μm) was employed for separation. The mobile phase consists of methanol- water(volume ratio 30: 70). The flow rate was 1 mL/min. The UV detection wavelength was set at 230 nm. A good linear relationship in the range of 11. 55~ 92. 40 mg/L was obtained. The average recovery was found to be 99. 8% with 1. 5% RSD. The method is simple, sensitive and rapid, and could be applied to the determination of paeoniflorin in Zhong Jing Wei Ling tablets.

Key words: Zhong Jing Wei Ling tablet; Paeoniflorin; SPE- HPLC

仲景胃灵片是 1 种纯天然新型胃药, 具有温中祛寒, 理气解郁, 健胃止痛等功能, 主治慢性浅表性胃炎、慢性萎缩性胃炎、胃及十二指肠溃疡等所致的胃脘隐痛或胀痛、嗳气吞酸、泛吐清水、食欲不振等。白芍为方中君药, 芍药苷为其主要成分。2000 年版中国药典一部^[1]中, 芍药苷的含量测定运用高效液相色谱法, 其前处理比较复杂, 采用大孔树脂先吸附后洗脱方法处理样品, 该法费时、操作复杂, 相对损失也较大, 为了提高检测速度, 本文采用固相萃取(SPE)前处理方法进行测定, 该法简便、高效、准确、专属性强、重复性好、结果可靠, 并且同样能够净化中药样品, 避免待测成分损失和保护高效液相色谱柱^[2], 从而优化了仲景胃灵片的含量测定前处理方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Waters 2695 高效液相色谱仪; Waters 2996 二极管阵列检测器; AC_120C、BP211D 电子天平; Waters 公司 Sep_Pak C₁₈ 微柱。

甲醇为色谱纯; 其它试剂均为分析纯; 芍药苷对照品(中国药品生物制品检定所); 仲景胃灵片(深圳市中联三药有限公司 200110233、200203071、200206167)。

1.2 对照品溶液的制备

取芍药苷对照品约 11 mg, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加入 50% (φ) 甲醇溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 作为贮备液。精密移取贮备液 1 mL, 置 10 mL 容量瓶中, 用 50% (φ) 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

1.3 供试品溶液的制备

取仲景胃灵片 20 片, 精密称定, 研成粉末, 取粉末 0. 3 g, 精密称定, 置 20 mL 量瓶中, 加 50% (φ) 甲醇至近刻度, 超声提取 60 min, 冷却, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 离心, 上清液流过 Sep_Pak

收稿日期: 2003- 01- 06 修回日期: 2003- 11- 07

作者简介: 林生文(1973-), 男, 福建闽侯人, 主管药师。

C₁₈ 微柱, 收集第 15~ 16 mL 流出液即得。

1.4 色谱条件与系统适应性

色谱柱: Intersil ODS(3) 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(体积比 30:70); 流速: 1.0 mL/min, 检测波长: 200~400 nm, 定量检测波长: 230 nm, 柱温: 40 ℃, 进样量: 20 μL。在上述色谱条件下, 理论塔板数大于 5 000, 芍药苷的保留时间为 13.1 min, 见图 1。

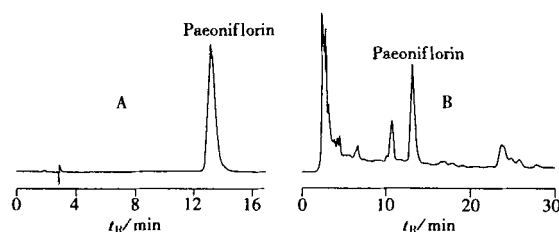


图 1 芍药苷对照品(A)及仲景胃灵片样品(B)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 Chromatograms of the paeoniflorin reference(A) and Zhong Jing Wei Ling tablet(B)

2 结果与讨论

2.1 标准曲线的制备

取芍药苷对照品 11.5 mg, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 用 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为贮备液。精密吸取贮备液 5、1、15、2、3、5 mL, 分别置 200、20、200、20、20、25 mL 容量瓶中, 用 50% 甲醇稀释成质量浓度分别为 11.55、23.10、34.65、46.20、69.30、92.40 mg/L 的一系列对照品溶液, 各进样 20 μL, 按上述色谱条件测定峰面积。以对照品质量浓度作为横坐标(X), 峰面积作为纵坐标(Y), 得线性回归方程: $Y = -5.751 \times 10^4 + 2.830 \times 10^4 X$, $r = 0.9999$, 表明芍药苷在 11.55~92.40 mg/L 范围内具有良好线性关系。

2.2 精密度试验

取对照品溶液(46.20 mg/L), 重复进样 6 次, 测定峰面积值, RSD 为 0.6%, 可见精密度良好。

2.3 稳定性试验

取同 1 份供试品溶液(批号: 200206167)分别于 0、1、24、25、28、48 h 各进样 20 μL, 记录色谱图, 测定峰面积值, RSD 为 1.1%, 可见供试品在 48 h 内稳定。

2.4 重复性试验

取同一批供试品(批号: 200206167), 分别平行称取 6 份, 照样品含量测定项下方法测定, RSD 为 1.3%, 重复性良好。

2.5 回收率试验

采用加标回收法, 取同一批已知含量的仲景胃灵片(批号: 200206167), 分别加一定量芍药苷对照品, 按上述色谱条件测定, 计算回收率, 结果见表 1, 可见, 本法具有良好的回收率。

表 1 回收率试验结果

Table 1 Recovery test

n	Original mg/mg	Added mg/mg	Found mg/mg	Recovery R/%	$\bar{R}/\%$	RSD s/%
1	0.683 4	0.462 0	1.149 2	100.8	99.8	1.5
2	0.703 4	0.462 0	1.172 9	101.6		
3	0.681 8	0.646 8	1.310 2	97.2		
4	0.705 7	0.646 8	1.351 3	99.9		
5	0.683 2	0.831 6	1.515 5	100.1		
6	0.682 1	0.831 6	1.506 7	99.2		

2.6 样品测定

分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液 20 μL, 按上述色谱条件测定峰面积, 计算含量, 结果见表 2。

2.7 讨论

(1) 试验过程中, 用本法与药典方法(大孔树脂进行前处理)进行比较, 结果见表 2。本法测定的含量略高于药典方法, 这是由于本法的回收率较好, 并且通过 PDA 检测器进行峰纯度检测, 芍药苷峰的纯度可以达到 99.7%, 所以可认为用大孔树脂提取方法的损失略大于本法。且本法的操作简便, 费时少。

表 2 本法与药典方法比较结果

Table 2 Comparison of analytical results of this method and a reference method

Sample batch No	Found $m_f / (\text{mg} \cdot \text{tablet}^{-1})$	$\bar{m} / (\text{mg} \cdot \text{tablet}^{-1})$	Results by the pharmacopeia ^[1] $m / (\text{mg} \cdot \text{tablet}^{-1})$
200210233	1.321	1.34	1.23
	1.395		
	1.297		
200203071	1.273	1.26	1.03
	1.267		
	1.240		
200206167	1.367	1.36	1.22
	1.360		
	1.364		

(2) 试验过程中, 用 50% (v/v) 甲醇和 60% (v/v) 甲醇分别超声提取 60 min, 发现两者测得结果基本一致, 前者为 1.36 mg/片, 后者为 1.35 mg/片, 考虑到色谱所用流动相中水的比例较大, 提取溶剂接近流动相配比为佳, 所以采用 50% (v/v) 甲醇提取 60 min。

(3) 称取样品 0.3086 g, 用 50% (v/v) 甲醇提取 30 min, 离心后上清液流过 Sep_Pak C₁₈ 微柱, 收集流出液, 每 2 mL 收集 1 份, 共收集 9 份, 将每份溶液各进样 20 μL , 记录色谱图。称取样品 0.3117 g, 按上述方法操作, 结果发现用 60% (v/v) 甲醇的溶液从第 2 份就达到稳定, 而用 50% 甲醇提取样品前 7 份含量依次递增, 第 7 份流出液开始趋于平衡, 即溶液中芍药苷的浓度达到稳定。在实验过程中, 应收集适当时间的流出液, 过早收集流出液, 有可能待测成分在 C₁₈ 固相填料中还未达到饱和, 使测得含量偏低, 而如若收集过迟的流出液, 那么强保留物质可能也达到饱和状态, 使 C₁₈ 固相填料过载导致流出液中含有较多的强保留物质, 而失去了固相萃取的意义。因此选择用 50% 甲醇为提取溶剂。为了确保含量测定的准确性, 取第 8 份溶液进行测定, 即第 15~16 mL 溶液作为供试品溶液, 流出曲线见图 2。

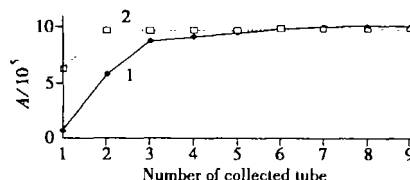


图 2 固相萃取流出曲线图

Fig. 2 Elution curve of SPE

1. 50% (v/v) methanol; 2. 60% (v/v) methanol

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 2000 年版一部. 北京: 化学工业出版社, 2000. 449-450.
- [2] 朱炳辉, 梁艺英, 莫金垣, 等. Sep_Pak C₁₈ 固相萃取-高效液相色谱法测定海马巴戟丸中芍药苷的含量[J]. 中成药, 1999, 23(10): 500-502.

(上接第 113 页)

依法配制的样品溶液在室温 25 $^{\circ}\text{C}$ 下避光放置 6 h, 期间每隔 1 h 测定一次, 测得含量与 0 h 的结果比较最大相对偏差(6 h)为 0.60%, 在正常误差范围之内, 说明本法用水配制样品溶液在避光条件下可稳定 6 h。而经比对试验, 用流动相配制的样品溶液在室温避光条件下只能稳定 2 h。

2.7 样品测定

按上述色谱条件与方法测定刚生产的盐酸洛美沙星滴眼液产品 2 批和接近有效期的供试品 2 批, 测得含洛美沙星相当于标示量的百分比分别为 102.2%、99.5%、93.2% 和 91.5% (以归一化法算得色谱杂质总和分别为 0.5%、0.6%、4.0% 和 3.7%), 而用紫外分光光度法^[1] 测得的相应结果分别为 101.5%、99.2%、95.9% 和 94.5%。测定结果表明, 当样品刚生产时由于杂质较少, 本法与 UV 法^[1] 结果基本一致; 但当产品存放至接近有效期时, 降解杂质增多, 本法测定结果明显较 UV 法低, 本法排除了杂质干扰, 应为更准确合理的结果。

参考文献:

- [1] 盐酸洛美沙星滴眼液[S]. 国家药品监督管理局标准(试行) WS-538(X-479)-99.
- [2] 周永刚, 朱月清. 盐酸洛美沙星滴眼液的制备[J]. 中国药学杂志, 2002, 37(7): 553-554.
- [3] 陈画虹, 韩丽萍, 张延军, 等. 反相 HPLC 法测定胆汁中洛美沙星的浓度[J]. 广东药学院学报, 2002, 18(4): 302.