

反相HPLC法测定摩罗冲剂中芍药甙含量

国家医药管理局天津药物研究院 (300193) 黎 阳*

摘要 用反相高效液相色谱法测定中成药摩罗冲剂中芍药甙的含量。以 C_{18} 柱为固定相, 甲醇-异丙醇-36%醋酸-水(25:2:2:71)为流动相分离效果最佳。平均回收率99.06%, 变异系数1.04%。本法提取简单, 分析快速、精确、重现性好。

关键词 摩罗冲剂 芍药甙 反相高效液相色谱

摩罗冲剂是我院新研制的胃病良药, 用于治疗慢性萎缩性胃炎、胃疼、胀满等症。该冲剂由白芍、茵陈、麦冬等18味中药组成, 成分复杂。为控制产品质量, 保证疗效, 对其中抗炎、镇痛、抗溃疡^[1]的有效成分芍药甙含量进行测定。文献报道过对芍药甙的测定有比色法^[2]、薄层层析法^[3]、气相色谱法^[4]、HPLC法^[5]等。经试验表明, 比色法和薄层色谱法均不适合此大复方制剂的分析, 采用反相高效液相分析法结果满意, 并对提取时间、溶媒、回收率等进行了考察。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪KONTRON LC PUMP F414型泵, UVIKON 722LC型检测器, KONTRON ANACOM 220型计算机, MSI 660T 自动进样器(均为瑞士KONTRON公司)。CSF-1A型超声波发生器(上海超声波仪器厂)。不锈钢色谱柱YWG- C_{18} (5×200 mm, 10 μ)(大连物化所)。

所用水为双蒸馏水, 试剂均为AR级。芍药甙(paeoniflorin)由中国药品生物制品检定所提供, 摩罗冲剂为我院样品。

2 实验条件

固定相: C_{18} 柱; 流动相: 甲醇-异丙醇-36%醋酸-水(25:2:2:71), 流速: 1.2 ml/min; 检测波长: 230 nm; 柱温: 32℃。

3 标准曲线

精密称取芍药甙适量, 用50%乙醇制成0.64 mg/ml的对照品溶液, 再分别稀释至0.032, 0.064, 0.096, 0.128, 0.160 mg/ml的5个不同浓度的溶液, 按上述色谱条件进样20 μ l。以峰面积(Y)为纵坐标, 浓度(X)为横坐标, 测得回归方程 $Y = -0.4321 + 168.09X$, 相关系数 $r = 0.9998$ 。结果表明, 在0.64~3.2 μ g间芍药甙含量与峰面积呈良好的线性关系。

4 样品分析方法

4.1 样品处理: 取摩罗冲剂粉末(过80目筛)0.1 g, 精密称定。置5 ml量瓶中, 加50%乙醇4.5 ml, 盖好, 超声提取40 min, 取出, 冷至室温, 再加50%乙醇至刻度, 摇匀, 离心, 取上清液过0.45 μ m滤膜, 弃去初滤液, 收集续滤液, 即为供试品溶液。

4.2 提取溶媒考察: 照样品处理方法, 分别以水饱和正丁醇、甲醇、95%乙醇、70%乙醇、50%乙醇、30%乙醇为溶媒, 超声40 min。测定结果见表1。

表1 6种溶媒提取结果

溶媒	正丁醇	甲醇	30%乙醇	50%乙醇	70%乙醇	95%乙醇
含量(%)	0.0068	0.3120	0.3496	0.3634	0.2997	0.0357

表2 不同时间提取结果

时间(min)	10	20	30	40	50
含量(%)	0.3309	0.3482	0.3506	0.3573	0.3569

* Address: Li Yang, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, State of Pharmaceutical Administration of China, Tianjin

4.3 提取时间考察: 以50%乙醇为溶媒, 超声10、20、30、40、50min, 结果见表2。

4.4 阴性干扰考察: 不含白芍的摩罗冲剂阴性样品, 照样品处理方法试验, 测得芍药甙峰处峰面积为零, 证明无干扰(图)。

4.5 仪器精密度考察: 取对照品溶液, 连续进样8次, 测得峰面积值, 计算 $CV = 1.72\%$ 。

4.6 回收率考察: 精密吸取已知浓度的对照品溶液, 加入到已知含量的样品粉末中, 照样品处理方法操作, 测定。计算平均回收率为99.06%, $CV = 1.04\%$ ($n=9$)。

4.7 样品含量测定: 精称3批样品, 测定结果见表3。

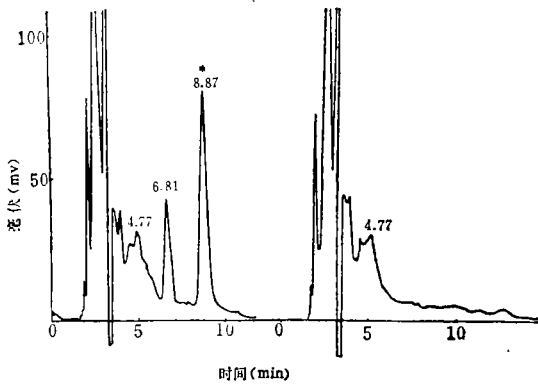


图 高效液相色谱图 (*芍药甙峰)

5 讨论

5.1 在用HPLC法测定中, 我们曾对几组流动相系统进行选择, 尤以甲醇-异丙醇-36%醋酸-水(25:2:2:71)为最佳。芍药甙峰形对称, 分离完全, 图谱简单, 且对柱效要求不高, 流动相价廉。将柱温控制在32℃, 有效地克服了上样量大、柱效低所产生的峰拖尾现象。

5.2 本法最大的特点是简单、快速、精密度高、重现性好。a) 样品处理简而快, 取样量少, 溶媒超声提取后, 只需经离心, 过滤即可进样分析。b) 分析快而精, 由于色谱图简单, 提高流速到1.2ml/min, 芍药甙出峰时间在9min 10s, 而且其峰后基本无峰, 一次实验只需12min完毕。应用仪器的微机控制, 连续进样, 达到快速、准确目的。本法不仅适合于多种中成药复方的分析, 也能用于单味药测定。因此, 便于推广应用。

表3 样品测定结果

批号	含量(%)			平均含量(%)	CV(%)
	1	2	3		
900222	0.4195	0.4059	0.3994	0.4083	2.51
900225	0.4143	0.4245	0.4157	0.4148	0.18
900227	0.3911	0.3960	0.3868	0.3913	1.18

致谢: 本研究得到我院苗长兴研究员、王益民老师的关怀和指导。

参 考 文 献

1 江纪武, 等. 植物药有效成分手册. 北京: 人民卫生出版社, 1985. 793
2 吉崎正雄, 他. 药学杂志(日), 1977, 97:916
3 吕方军, 等. 药物分析杂志, 1990, 10(2): 118
4 胡宝华. 汉方制剂分析技术. 北京: 人民卫生出版社, 1986. 109
5 李章万, 等. 药物分析杂志, 1990, 10(6): 331

(1994-02-05收稿)

(上接第406页)

参 考 文 献

1 张宝凤, 等. 药学报, 1985, 5: 37
2 张宝恒, 等. 中国药理学, 1990, 11(8): 253
3 北京医学院主编. 中草药成分化学. 北京: 人民卫生出版社, 1980. 133
4 王建明, 等. 中医药学报, 1990, 3: 42
5 中华人民共和国药典. (1990年版) 附录60

(1993-12-24收稿)

ABSTRACTS OF ORIGINAL ARTICLES

Chemical Studies on Peptide-Polysaccharides of Lingzhi (*Ganoderma lucidum*)

He Yunqing, Li Rongzhi, Cai Tingwei, et al

Two glycan peptides, GLSP₁ and GLSP₂, were obtained from the hot-water extract of the fruit-body of *Ganoderma lucidum*. Gel chromatography and HPLC showed that they are both homogeneous polysaccharides, with molecular weights of 12800 and 14100 respectively. Through the procedures of total acidic hydrolysis, periodate oxidation, Smith degradation, and spectral determination, GLSP₁ proved to be a glycan peptide with β -(1 $\rightarrow$ 3) (1 $\rightarrow$ 6) and (1 $\rightarrow$ 4) linkage, 26.6% of which is peptide; while GLSP₂ proved to be a glycan peptide with β -(1 $\rightarrow$ 6) and (1 $\rightarrow$ 4) linkage, and the sugar residue ratio in these two bonds is 1:1. The chain of GLSP₂ has branches, and peptide takes 12.3% of it. Basic β -elimination reaction indicated that the sugar residues in the two glycan peptides are linked with O-bond to serine and threonine on the peptide chain.

(Original article on page 395)

Studies on the Chemical Constituents of Chinese Sealavender (*Limonium sinense*)

Guo Hongzhu, Yuan Jiurong

Four known flavonoids were isolated from the aerial part of *Limonium sinense* (Girald) -Kuntze. On the basis of UV, ¹HNMR, ¹³CNMR and FAB-MS spectroscopic analysis, they were identified as myricetin-3-O- β -D-glucoside (I), myricetin-3-O- α -L-rhamnoside (II), quercetin-3-O- α -L-rhamnoside (III) and quercetin (IV). This seemed to be the first report describing their isolation from *L. sinense*.

(Original article on page 398)

Studies on the Release Rates of Xinluning Tablet in Vitro

Chen Xingcan, Yu Xishui, et al

The main active component of Xinluning tablet, an antiarrhythmic preparation, are matrine, oxymatrine, sophoranol, anagyine, baptifoline etc. In this study, total alkaloids in the tablet were determined by acid complexing, and their release rate from the tablet determined in artificial gastric juice.

(Original article on page 405)

Determination of Paeoniflorin in "Moluo Granules" by Reversed Phase HPLC

Li Yang

Paeoniflorin in Chinese traditional patent medicine "Moluo granules" was determined by reversed phase HPLC. Optimum separation was achieved by employing C₁₈ column as the stationary phase, MeOH-(CH₃)₂CHOH-36% HOAc-H₂O (25:2:2:71) as the mobile phase. The average recovery is 99.06%, and the coefficient of variation is 1.04%. The extraction is simple, the analytical method is rapid and accurate with good reproducibility.

(Original article on page 407)