

胃脘舒冲剂三维高效液相色谱鉴定及指标性成分的定量

上海长海医院临床药理室(200433) 宋洪杰* 胡晋红 全山丛

摘 要 采用 3D-HPLC 对胃脘舒冲剂进行了定性鉴别并建立其指标性成分的定量分析方法。色谱柱: CLC-ODS(6.0 mm×150 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1% 醋酸水溶液系统; 洗脱方式: 二元高压梯度洗脱; 检测方式: 二级管阵列检测器多通道检测; 测定波长: 芍药苷 230 nm, 甘草酸 254 nm, 橙皮苷 283 nm; 各指标性成分的线性范围分别为: 芍药苷 4.23~67.68 μg/mL ($r=0.9999$, $n=5$), 橙皮苷 7.50~119.20 μg/mL ($r=0.9998$, $n=5$), 甘草酸 10.50~168.00 μg/mL ($r=0.9994$, $n=5$); 加样回收率及 RSD 分别为: 芍药苷 89.46%, 2.87%, 橙皮苷 93.76%, 2.48%, 甘草酸 90.22%, 1.79%。同时用三维 HPLC 图谱对胃脘舒冲剂进行了定性鉴别。

关键词 指标性成分 胃脘舒冲剂 三维高效液相色谱法 甘草酸 橙皮苷 芍药苷

Identification and Determination of Marker Substances in Weiwanshu Chongji by Three Dimensional HPLC

Song Hongjie, Hu Jinhong and Quan Shancong (Department of Clinical Pharmacology, Changhai Hospital, Shanghai 200433)

Abstract The Weiwanshu Chongji was analyzed by three dimensional HPLC. Some of the Chinese herbal drugs could be identified and the contents of the marker substances could be determined. Column: Shim-pack CLC-ODS (6.0 mm×150 mm, 5 μm). Mobile phase: acetonitrile-0.1% acetic acid solution; Elution mode: binary high pressure gradient system; Detector: UV/Vis photodiode array detector, the detection was performed by multi-channel chromatograms with different wavelengths, the detection wavelengths were 230 nm for paeoniflorin, 254 nm for glycyrrhizic acid and 283 nm for hesperidin. The marker substances were identified by three dimensional chromatogram. The linear ranges were: 4.23~67.68 μg/mL ($r=0.9999$, $n=5$) for paeoniflorin, 7.50~119.20 μg/mL ($r=0.9998$, $n=5$) for hesperidin, and 10.50~168.00 μg/mL ($r=0.9994$, $n=5$) for glycyrrhizic acid. The recoveries and RSD were: 89.46%, 2.87% for paeoniflorin, 93.76%, 2.48% for hesperidin and 90.22%, 1.79% for glycyrrhizic acid. The Weiwanshu Chongji was identified by three dimensional chromatograms.

Key words marker substance Weiwanshu Chongji three dimensional HPLC paeoniflorin hesperidin glycyrrhizic acid

胃脘舒冲剂主要由党参、甘草、白芍、山楂、陈皮和延胡索等中药组成, 临床主要用于治疗萎缩性胃炎。单味中药中某种特定成分并不能反映其内在质量, 因此作者试图尝试测定胃脘舒冲剂中芍药苷、橙皮苷和甘草酸

的含量, 从而探索指标性成分分析的可行性, 并利用三维高效液相色谱法对胃脘舒冲剂进行了定性鉴别, 以达到控制其质量的目的。

1 材料和方法

1.1 仪器及试剂: 岛津液相色谱仪(泵: LC-

* Address: Song Hongjie, Department of Clinical Pharmacology, Changhai Hospital, Shanghai
宋洪杰 1995 年毕业于第二军医大学药物分析专业, 获硕士学位, 主管药师, 主要从事药物分析和药代动力学研究, 共发表论文 10 余篇。

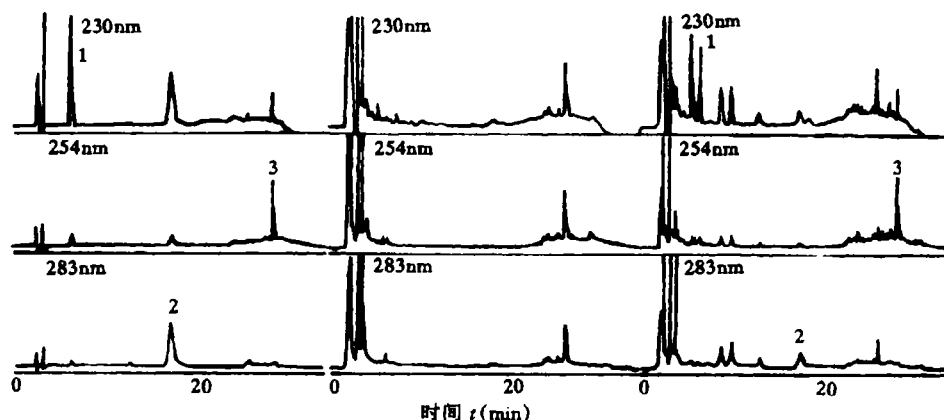
10AD, 二极管阵列检测器:SPD-10Avp, LC 工作站:CLASS-LC10), 超声波振荡器(上海必能信超声有限公司, SB5200, 频率 50 kHz), 乙腈(HPLC 级), 冰醋酸(分析纯), 甲醇(HPLC 级), 甘草酸单铵盐、芍药苷、橙皮苷标准品均由中国药品生物制品检定所提供, 药材及制剂由上海长海医院提供。

1.2 标准贮备液的制备:分别精密称取甘草酸单铵盐 10.50 mg、芍药苷 8.4 mg 和橙皮苷 7.45 mg, 放入 10 mL 量瓶中, 用甲醇定容。

1.3 供试品药液的制备:取胃脘舒冲剂粉末约 0.5 g, 放入 25 mL 量瓶中, 加入 50% 甲醇

20 mL, 超声振荡提取 1 h, 冷却后 3 000 r/min 离心 6 min, 取 2.5 mL 放 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容后 1×10^4 r/min 离心 4 min, 微孔滤膜(0.45 μ m)过滤;各单味中药及缺一味的模拟冲剂, 按制备工艺处理, 以同样方法提取, 分别制备成供试品药液。

1.4 色谱条件:色谱柱:Shim-pack CLC-ODS(6.0 mm $\times$ 150 mm, 5 μ m), 流速:1.2 mL/min, 流动相:乙腈-0.1% 醋酸水溶液, 梯度洗脱程序如下:0 $\rightarrow$ 15 min, 乙腈 20%;15 $\rightarrow$ 25 min, 乙腈 20% $\rightarrow$ 50%, 线性洗脱;25 $\rightarrow$ 35 min, 乙腈 50%, 分离结果见图 1。



A-芍药苷、橙皮苷和甘草酸标准品

B-阴性药液

C-胃脘舒冲剂

1-芍药苷 2-橙皮苷 3-甘草酸

图 1 样品 HPLC 图

2 结果

2.1 定性鉴别:按上述所选的色谱条件,分别绘制单味中药、缺一味中药的模拟药液及供试品药液的三维图谱,经对照分析,处方中的甘草、陈皮和芍药有特征吸收峰,可被确认。三维鉴定图谱见图 2。山楂、党参在所选的波长范围无特征吸收峰,延胡索所含成分峰吸收强度较弱,有的峰被其它组分峰掩盖,故未被确认。

2.2 标准曲线制备:分别取甘草酸单铵盐、芍药苷和橙皮苷适量,置 10 mL 量瓶中,用甲醇定容配制成系列浓度,进样 10 μ L,进行梯度洗脱,以对照品浓度(C)为横坐标,峰面积(A)为纵坐标进行线性回归,各指标性成

分的线性范围、检测波长及相关系数见表 1。

由表 1 可见,各标准对照品在所选的浓度范围内线性关系良好。

2.3 干扰试验:为考察其他药材对所测定的 3 种组分有无干扰,我们制备了缺上述 3 种药材的阴性药液,从图 1 可见,其他药材对测定无干扰。

2.4 精密度试验:取供试品药液 10 μ L 进样,重复测定 5 次,各组分的 RSD 分别为:甘草酸 1.66%,芍药苷 2.03%,橙皮苷 0.85%。

2.5 加样回收率:取已知含量同一批号样品的 0.5 g,分别加入各标准对照品适量,按供试品药液的制备方法提取,进样 10 μ L,按色谱条件测定,计算加样回收率,结果见表 2。

2.6 样品测定:取两个批号的供试品液,进样 10 μ L,按标准曲线计算含量,结果见表 3。

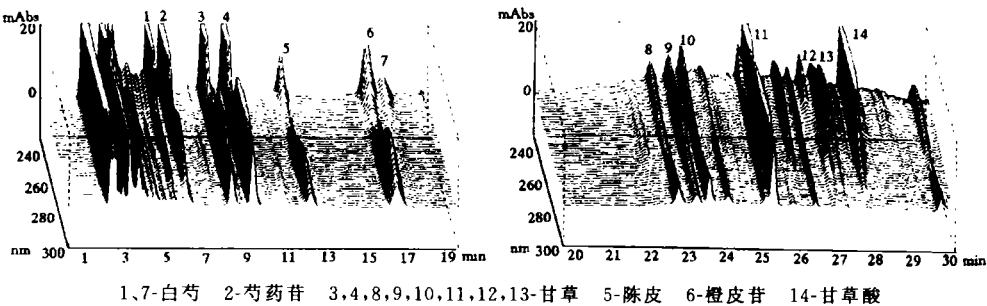


图 2 胃脘舒冲剂三维 HPLC 图

表 1 指标性成分的线性范围、检测波长、保留时间、回归方程及相关系数

指标性成分	线性范围(μ g/mL)	检测波长(nm)	保留时间(min)	回归方程
芍药苷	4.23~67.68	230	6.40	$A=-9594.04+21993.20C(r=0.9999)$
橙皮苷	7.50~119.20	283	17.24	$A=32201.04+6817.22C(r=0.9998)$
甘草酸	10.50~168.00	254	27.76	$A=30722.46+5062.23C(r=0.9994)$

表 2 芍药苷、橙皮苷、甘草酸的加样回收率

组分	已知含量 (mg)	加入量 (mg)	测得总量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD(n=3) (%)
芍药苷	0.5016		1.1343	88.47	89.46 $\pm$ 2.57	2.87
	0.5491	0.7152	1.2098	92.38		
	0.5026		1.1287	87.54		
	1.0314		1.8966	96.31		
橙皮苷	1.1291	0.8983	1.9665	93.22	93.76 $\pm$ 2.32	2.48
	1.0335		1.8578	91.76		
	1.5799		2.5265	90.15		
	1.7296	1.0500	2.6603	88.64		
甘草酸	1.7296	1.0500	2.6603	88.64	90.22 $\pm$ 1.61	1.79
	1.5831		2.5476	91.86		

表 3 样品测定结果(n=3)

批号	甘草酸 (mg/g)	RSD (%)	芍药苷 (mg/g)	RSD (%)	橙皮苷 (mg/g)	RSD (%)
980121	3.1616 $\pm$ 0.0747	2.36	0.9298 $\pm$ 0.0238	2.56	2.2061 $\pm$ 0.0394	1.78
980331	3.1373 $\pm$ 0.2157	6.87	0.9960 $\pm$ 0.0217	2.18	2.0481 $\pm$ 0.0792	3.86

3 讨论

3.1 本文采用乙腈-0.1%醋酸水溶液作为洗脱系统,应用二元高压梯度洗脱方式使待测组分 30 min 内出峰,一次进样即可完成 3 种性质不同组分的定性、定量,缩短了分析时间,提高了分析效率。

3.2 中药复方是由多种指标性成分协同作用而发挥效应,作者应用二极管阵列检测器的多通道检测功能,选择各个待测指标性成分的最大吸收波长检测,达到了多种成分同时定量的目的,同时也避免了常用 UV 检测

器只能在单一波长下同时检测几种物质所引起的灵敏度低的问题。本文选择了 230 nm 测定芍药苷,254 nm 测定甘草酸,283 nm 测定橙皮苷。

3.3 在实验过程中发现,各单味药材按工艺制备提取后,三维图谱有特定吸收峰的位置在供试品药液相应位置上出现了无峰和峰变小现象,这也说明各味药材在工艺制备中存在着相互作用。

(1998-11-25 收稿)