

胃肠健胶囊含量测定方法的改进

周琳 (湖南省永州市药品检验所, 湖南 永州 425006)

摘要: 目的 改进胃肠健胶囊中芍药苷含量测定方法。方法 采用高效液相色谱法, 色谱柱为 Ultimate™ XB-C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-异丙醇-0.7% 醋酸溶液 (18: 2: 80), 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长为 230 nm, 柱温为室温。结果 芍药苷在 0.193~1.158 μg 线性关系良好 ($r=0.9997$, $n=6$), 平均回收率为 96.47% ($n=9$), RSD 为 1.93%。结论 该法可用于胃肠健胶囊中芍药苷的含量测定。

关键词: 芍药苷; 胃肠健胶囊; 高效液相色谱; 含量测定

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1672-2981 (2008) 05-0571-03

Improvement of content determination for Weichangjian capsules

ZHOU Lin (Yongzhou Institute for Drug Control, Yongzhou Hunan 425006)

Abstract Objective To improve the method of paeoniflorin determination in Weichangjian capsules. **Methods** An HPLC method was established using Ultimate™ XB-C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) as analytical column, the mobile phase was methanol+isopropanol+0.7% acetic acid solution, the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, and detection wavelength was 230 nm. **Results** The linear range of paeoniflorin was 0.193~1.158 μg ($r=0.9997$, $n=6$), the recovery was 96.47% ($n=9$), and the RSD was 1.93%. **Conclusion** The method can be used for the content determination of paeoniflorin in Weichangjian capsules.

Key words: paeoniflorin; Weichangjian capsules; HPLC; determination

胃肠健胶囊收载于国家药品监督管理局标准 (试行), 标准号为 WS-5007 (B-0007)-2002, 用 HPLC 法测定其芍药苷含量 (以下简称标准方法), 在标准执行过程中发现, 其色谱行为不佳 (芍药苷峰与邻近杂质峰分离不完全等)。本文参考文献^[1-8], 优化色谱条件及供试品溶液的制备方法, 提高了芍药苷含量测定方法的重复性、耐用性。并经方法学验证, 结果表明本法可作为胃肠健胶囊含量测定方法。

1 仪器与试剂

Waters 系列高效液相色谱仪 (美国: 2996 型二极管阵列检测器, 717 自动进样器, 1525 双元泵, Waters 公司 Empower 工作站)。

芍药苷对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号: 110736-200527 供含量测定用); 水为双重蒸馏水, 甲醇、异丙醇均为色谱纯, 其他试剂为分析纯; 胃肠健胶囊 (湖南敬和堂制药有限公司, 批号: 20070101、20061001、20061101)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Ultimate™ XB-C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-异丙醇-0.7% 醋酸溶液 (18: 2: 80), 流速: 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长: 230 nm, 柱温: 室温, 采用外标法定量。

2.2 对照品储备液的制备

精密称取经五氧化二磷干燥至恒重的芍药苷对照品 9.65 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇使溶解并稀释至刻度,

摇匀, 作为储备液。

2.3 供试品溶液的制备

取本品 10 粒, 混匀, 取细粉约 2 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇 40 mL, 超声处理 (功率 200 W, 频率 40 kHz) 30 min, 放冷, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 25 mL, 蒸干, 加水适量使溶解并转移至已处理好的 D101 柱 (内径 1.5 cm, 柱高 12 cm), 用水 100 mL 洗脱, 去掉水溶液, 再用 30% 甲醇 120 mL 洗脱, 收集 30% 甲醇洗脱液, 蒸干, 残渣用 30% 甲醇使溶解, 并转移至 10 mL 量瓶中, 加 30% 甲醇至刻度, 摇匀, 过滤膜 (0.45 μm), 即得。

2.4 专属性试验

按胃肠健胶囊处方称取除白芍的各药, 按其工艺制备阴性样品, 再按“2.3”制备并测定, 结果阴性样品溶液在与芍药苷色谱峰相同保留时间的位置上, 未见干扰峰出现。样品中芍药苷吸收光谱曲线与芍药苷对照品保持一致。在系统适用性试验中, 与标准方法的色谱条件比较, 结果见表 1, 色谱图见图 1。结果表明本法专属性强, 色谱条件及供试品溶液的制备方法明显优于标准方法。

表 1 系统适用性试验结果比较 ($n=3$)

Tab 1 Different result of differential test ($n=3$)

| 方法 (method) | 保留时间 (retention time) / min | 理论塔板数 (theoretical plate number) | 分离度 (resolution) |
|----------------|--------------------------------|-------------------------------------|---------------------|
| 本法 | 20.57 | 9963 | 4.3 |
| 标准方法 | 18.23 | 1630 | < 1.5 |

作者简介: 周琳, 男, 副主任药师, 主要从事药物检验工作, Tel: 13207467061。

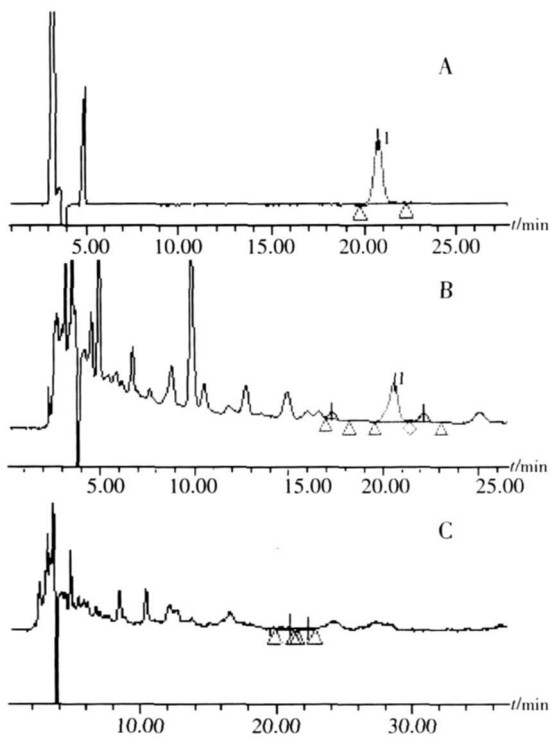


图 1 胃肠健胶囊 HPLC 色谱图

Fig 1 HPLC chromatogram of Weichangjian capsules

A. 对照品 (reference substance); B. 样品 (sample); C. 阴性样品 (negative sample); 1. 芍药苷 (paeoniflorin)

2.5 线性关系考察

分别精密量取对照品储备液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 各进样 10 μL, 按上述色谱条件测定芍药苷峰面积, 以进样量 (μg) 为横坐标 (X), 峰面积 A 为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 得回归方程: $Y = 9.792 \times 10^5 X + 3.620 \times 10^3$, ($r = 0.9997, n = 6$)。结果表明, 芍药苷进样量在 0.193~1.158 μg 与峰面积呈良好线性关系。

2.6 精密度试验

取同一份供试品溶液, 重复进样 6 次, 记录芍药苷保留时间, 计算 RSD 为 0.2%, 记录其峰面积, 计算 RSD 为 0.8% ($n = 6$)。

2.7 重复性试验

取同一批号的样品, 按供试品溶液的制备方法制备 6 份供试品溶液, 分别测定芍药苷含量, 计算 RSD 为 1.9% ($n = 6$), 表明本方法重复性良好。

2.8 稳定性试验

取同一份供试品溶液, 室温下放置 0.5、1、2、3、5、7、9、12 h, 按时进样, 记录芍药苷峰面积, 计算 RSD 为 2.1% ($n = 8$), 表明供试品溶液在 12 h 内基本稳定。

2.9 加样回收率试验

取同一批号的样品 9 份, 其芍药苷含量为 0.6237 mg · g⁻¹, 各精密加入一定量的芍药苷对照品, 按供试品溶液的制备方法制备及上述色谱条件测定, 计算回收率, 结果见表 2, 表明本方法具有良好的回收率。

表 2 加样回收率试验结果 (n=9)

Tab 2 Sample recovery test (n=9)

| 编号 (No.) | 样品量 (sample amount) / g | 样品含量 (content of sample) / mg | 加入量 (added amount) / mg | 测得量 (detected amount) / mg | 回收率 (recovery) / % | 平均回收率 (average recovery) / % | RSD / % |
|----------|-------------------------|-------------------------------|-------------------------|----------------------------|--------------------|------------------------------|---------|
| 1 | 0.8295 | 0.517 | 0.502 | 0.998 | 95.82 | | |
| 2 | 0.8054 | 0.502 | 0.502 | 0.985 | 96.22 | | |
| 3 | 0.8351 | 0.521 | 0.502 | 0.989 | 93.23 | | |
| 4 | 1.0789 | 0.673 | 0.618 | 1.27 | 96.60 | | |
| 5 | 1.0215 | 0.637 | 0.618 | 1.25 | 99.19 | 96.47 | 1.93 |
| 6 | 0.9971 | 0.622 | 0.618 | 1.23 | 98.38 | | |
| 7 | 1.1909 | 0.743 | 0.733 | 1.45 | 96.45 | | |
| 8 | 1.2071 | 0.753 | 0.733 | 1.47 | 97.82 | | |
| 9 | 1.2137 | 0.757 | 0.733 | 1.45 | 94.54 | | |

2.10 样品测定

取不同批号的样品, 按“2.3”项制备及上述色谱条件测定, 同时采用标准方法测定 (标准规定每粒芍药苷含量 ≥ 0.12 mg), 结果见表 3。

表 3 2 种测定方法结果比较 (n=3)

Tab 3 Determination by the 2 methods (n=3)

| 批号 (batch) | 本法 (described method) | | 标准方法 (standard method) | |
|------------|--|---------|--|---------|
| | 每粒芍药苷含量 (content of paeoniflorin in each capsule) / mg | RSD / % | 每粒芍药苷含量 (content of paeoniflorin in each capsule) / mg | RSD / % |
| 20070101 | 0.209 | 1.40 | 0.101 | 8.93 |
| 20061001 | 0.203 | 1.25 | 0.331 | 9.36 |
| 20061101 | 0.199 | 1.54 | 0.162 | 6.65 |

3 讨论

3.1 供试品溶液制备方法的选择^[1-8]

标准方法: 甲醇提取, 25 mL 提取液蒸干, 水使溶解, 转移至 10 mL 量瓶中。本试验表明, 注入液相色谱仪的供试品溶液所含杂质较多, 损害色谱柱; 芍药苷与杂质较难分离, 芍药苷转移率不佳且重复性差。本法采用过 D101 柱以除杂质, 可克服以上不足。考察了洗脱剂水的不良影响, 洗脱水溶液按供试品溶液的制备方法制备及上述色谱条件测定, 结果未见芍药苷峰。考察了洗脱溶剂 (30% 甲醇、40% 甲醇、50% 甲醇) 及洗脱溶剂体积, 结果 30% 甲醇 120 mL 不仅能洗脱芍药苷还具有良好的纯化效果。

3.2 流动相的选择^[1-8]

比较甲醇-水 (标准方法)、乙腈-0.1% 磷酸溶液、甲醇-乙腈-0.1% 磷酸溶液、甲醇-异丙醇-0.7% 醋酸溶液, 试验

表明甲醇-异丙醇-0.7%醋酸溶液(18:2:80)色谱系统适用性参数最佳。

3.3 本法耐用性考察

分别考察了流动相比比例变化±5%,柱温变化±5℃,检测波长±5nm,流速相对值变化±20%,采用3根不同品牌的色谱柱(Ultimat™XB-C₁₈柱、Hypersil BDS C₁₈柱、Diamonsil C₁₈柱)进行了试验,结果系统适用性参数符合要求。

3.4 测定差异分析

按标准方法测定每粒芍药苷含量精密度低,与本法比较同一样品每粒芍药苷含量差异大。由于标准方法中芍药苷峰与邻近杂质峰未完全分开或完全重叠,引起峰面积积分结果失真,导致芍药苷含量重现性极差。

[1] 中国药典 2005 年版. 一部 [S]. 2005: 511.
 [2] 孙恩玲. HPLC 法测定健胃愈疡片中芍药苷的含量 [J]. 中国药品标准, 2004, 5 (2): 34-35.
 [3] 周祖坤, 孙代华. 高效液相色谱法测定当归芍药颗粒剂中芍药苷的含量 [J]. 药物分析杂志, 2006, 26 (7): 1001-1003.
 [4] 朱秀华. 高效液相色谱法测定归芍六君丸中芍药苷 [J]. 中成药, 1991, 13 (6): 14-16.
 [5] 向莉琳, 颜胜利, 王伟. 反相高效液相色谱法测定冠心宁胶囊中芍药苷的含量 [J]. 中南药学, 2006, 1 (4): 24-25.
 [6] 苏晓涛, 李素霞. 高效液相色谱法测定健胃消炎颗粒中芍药苷的含量 [J]. 中国药业, 2006, 15 (15): 32-33.
 [7] 湛延风, 严建业, 方堃. 高效液相色谱法测定妇炎康胶囊中芍药苷的含量 [J]. 中南药学, 2006, 1 (4): 36-38.
 [8] 张震, 井立霞, 徐瑞军, 等. 消炎饮一号中芍药苷的含量 [J]. 中国药业, 2006, 10 (15): 12-13.

(收稿日期: 2007-11-19; 修回日期: 2008-03-16)

参考文献

消脂饮防治大鼠高脂血症性脂肪肝的实验研究

王晓昆, 唐瑛*, 邹瑞, 邓惠玲 (广州军区武汉总医院医学实验科, 武汉 430070)

摘要: 目的 研究消脂饮对大鼠实验性高脂血症性脂肪肝的防治作用。方法 采用高脂乳剂建立大鼠高脂血症性脂肪肝模型, 实验分为正常组、模型组、消脂饮高剂量组和低剂量组, 以东宝肝泰为阳性组, 以高、低剂量消脂饮和东宝肝泰进行干预, 测定肝脂含量及肝中超氧化物歧化酶 (SOD) 活性、丙二醛 (MDA) 含量和维生素 E 水平。结果 用药各组肝中总胆固醇 (TC)、低密度脂蛋白 (LDL-C)、甘油三酯 (TG) 和肝 MDA 含量均明显降低; 而肝 SOD 活性、维生素 E 水平和高密度脂蛋白 (HDL-C) 显著升高。结论 消脂饮对大鼠高脂血症性脂肪肝具有预防和治疗作用, 其机制可能是通过清除自由基, 提高机体抗氧化能力。

关键词: 消脂饮; 高脂血症性; 脂肪肝; 降血脂作用

中图分类号: R965 文献标识码: A 文章编号: 1672-2981 (2008) 05-0573-03

Protective and therapeutic effect of Xiaozhi potion on fatty liver with hyperlipemia in rat model

WANG Xiaokun, TANG Ying*, ZOU Rui, DENG Huiling (Department of Medical Experiments, Wuhan General Hospital of Guangzhou Command Area of the PLA, Wuhan 430070)

Abstract: Objective To determine the protective and therapeutic effect of Xiaozhi potion on fatty liver with hyperlipidemia. **Methods** Model of fatty liver with hyperlipidemia was created by feeding rats high fat emulsion. We divided the rats into a normal control group, a model group, a high dose group, a low dose group and a DongBaoGanTai group randomly. Each treatment group was intervened by its own medicine. The biochemical changes in the liver, and the SOD activity and the MDA content and Vit E level were tested in all groups. **Results** Compared with the model group, the TC, TG and LDL-C levels in rat livers were reduced markedly, the MDA content was much lowered, and the SOD activity and Vit E level were increased greatly. **Conclusion** Xiaozhi potion can effectively treat and prevent experimental fatty liver with hyperlipidemia in rats, and its mechanism may be associated with removing the free radicals and enhancing the capability of anti-oxidation.

作者简介: 王晓昆, 女, 硕士研究生, 主要从事动物病毒学及病理学研究, Tel: (027) 68878660, E-mail: happywxk@yahoo.com.cn
 * 通讯作者: 唐瑛, 女, 主任医师, 主要从事药理学研究, Tel: (027) 68878659, E-mail: maotouol@163.com