

杞菊地黄口服液中药药甙的HPLC 测定和山茱萸的HPLC 鉴别

余 洪* 杭州胡庆余堂制药厂, 杭州(310002)

摘要 应用高效液相色谱法测定杞菊地黄口服液中芍药甙的含量。样品用正丁醇提取, YWG C₈柱, 流动相为乙腈—水(13:87), 峰面积定量。方法准确, 重现性好, 平均加样回收率为99.0%, CV为1.01%。以山茱萸为对照药材, 能同时鉴别样品中的山茱萸。本法适用于该制剂的质量控制。

关键词 杞菊地黄口服液 芍药甙 山茱萸 含量测定 鉴别 HPLC

1 仪器与试剂

仪器: 美国 SP3800泵, SP8450紫外检测器, SP4270 数据处理机。试剂: 乙腈(色谱纯)浙江黄岩化工实验厂; 重蒸水: 自制; 其它试剂为分析纯。芍药甙对照品: 中国药品生物制品检定所, 批号: 736—8903; 山茱萸对照药材: 鉴定为 *Cornus Officinalis* Sieb et Zucc 的干燥成熟果肉; 牡丹皮药材: 鉴定为 *Paeonia Suffruticosa* Andr 的干燥根皮。鉴定人: 杭州胡庆余堂制药厂郭增喜。样品: 杭州胡庆余堂制药厂。

2 样品的提取方法

2.1 样品: 精密吸取样品 5 ml, 置分液漏斗中, 分别加水饱和和正丁醇提取 (5 ml × 4), 合并醇层, 置水浴上蒸干, 残渣用甲醇溶解, 定容至 10 ml, 用 0.45 μ 滤膜过滤, 作为供试品溶液。

2.2 对照药材和缺味样品: 按杞菊地黄口服液处方配置不同对照药材和缺味样品。分别称取缺牡丹皮的群药粉末 4.26 g, 缺山茱萸的群药粉末 4.11 g, 牡丹皮对照药材粉末 0.50 g, 山茱萸对照药材粉末 0.65 g, 分别加 50% 乙醇溶液 10 ml, 超声提取 45 min, 过滤, 滤液至水浴蒸至无醇味, 加水定容至 10 ml, 分取 5 ml, 按样品提取方法分别制备缺牡丹皮供试品溶液, 缺山茱萸供试品溶液, 牡丹皮对照药材溶液和山茱萸对照药材溶液。

3 色谱分离条件

色谱柱: YWG C₈ 柱 (4.6 × 250 mm), 中国

科学院大连化物所制。流动相: 经不同配比的乙腈—水试验, 确定为乙腈—水 (13:87), 流速为 1.2 ml/min, 检测波长 230 nm, 灵敏度 0.02 AUFS。供试品进样 10 μl, 层析分离芍药甙已基线分离。缺牡丹皮供试品进样 10 μl, 在相应位置上无色谱峰; 牡丹皮对照药材进样 10 μl, 在相应位置上呈相同的色谱峰, 表明其它药材不干扰芍药甙的测定。见图 1。

4 系统适用性实验

分别取供试品溶液和每 ml 含 0.02 mg 的芍药甙甲醇溶液, 进样 10 μl (分别进样 3 次), 记录色谱图, 以芍药甙峰计算最小理论塔板数, 以芍药甙峰和相邻的杂质峰计算分离度。

$$n = 5.54(t_R/W_{1/2})^2 = 5.54(13.66/0.58)^2 = 3073$$

故以芍药甙峰计算, 理论板数应不低于 3000

$$\begin{aligned} R &= 2(t_{R2} - t_{R1})/W_1 + W_2 \\ &= 2(13.66 - 8.24)/(1.2 + 0.7) \\ &= 5.71 (> 1.5) \end{aligned}$$

5 标准曲线的制备

精密吸取芍药甙对照品 1.50 mg, 置于 10 ml 容量瓶中, 加入甲醇稀释至刻度。各分取 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 ml 分别用甲醇稀释至 10 ml。各进样 10 μl, 以浓度为横坐标, 峰面积 ($A \times 10^3$) 为纵坐标, 得回归直线方程为: $y = -0.1885 + 13.52x$; 相关系数 $r = 0.9999$ 。

*余洪, 35岁。1982年毕业于浙江工学院分析化学专业, 工程师。

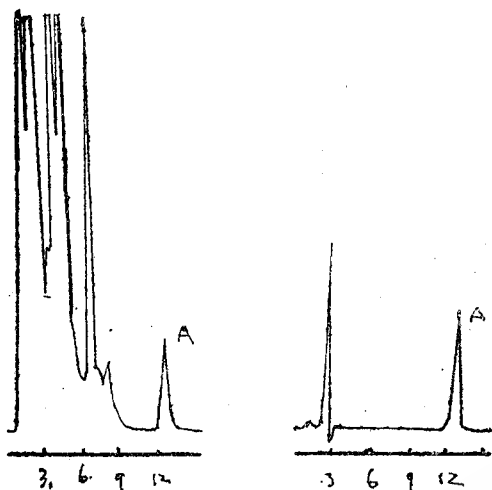


图1 芍药甙分离图谱

图1—1样品

1—2对照品

A 芍药甙峰

6 加料回收率试验

精密吸取已测得芍药甙含量的样品5 ml, 精密加入芍药甙对照品, 按样品项下处理, 测定。结果见表1

表1 回收率测定结果

编号	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	CV (%)
1	0.225	0.229	101.7	98.7	1.01
2	0.225	0.218	96.9		
3	0.225	0.220	98.7		
4	0.120	0.118	98.3		
5	0.120	0.119	99.1		
6	0.120	0.117	97.5		

7 山茱萸的鉴别

取供试品溶液, 山茱萸对照药材溶液和缺山茱萸供试品溶液各1 μ l, 注入色谱仪, 色谱分离见图2。供试品呈现与山茱萸对照药材保留时间相同的2个色谱峰, 缺山茱萸供试品在相应位置上无色谱峰, 据此, 可以鉴别样品中的山茱萸。

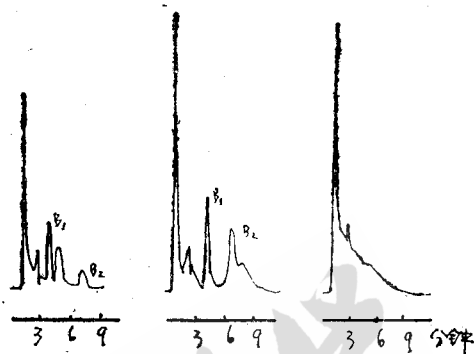


图2 山茱萸分离图谱

图2—1样品

图2—2山茱萸对照药材

图2—3 缺山茱萸供试品

B 山茱萸特征峰

8 样品测定

按照拟订的方法, 对不同批号样品进行含量测定和鉴别实验。结果见表2。

表2 样品测定结果

样品批号	含量 (mg/ml)	CV (%)	n	鉴别
910609	0.0453	2.31	5	+
911117	0.0516	2.94	3	+
920301	0.0669	1.83	3	+
911008	0.112	1.64	3	+
920419	0.0747	2.58	3	+
920327	0.0568	3.02	3	+

9 小结与讨论

1. 本文拟订的方法, 能在同一色谱条件下测定芍药甙的含量和鉴别山茱萸, 且含量测定方法准确, 重现性好; 鉴别方法简便, 灵敏度高, 适用于该制剂的质量控制。其鉴别方法也为山茱萸药材和含山茱萸制剂的鉴别提供了新的手段。

2. 流动相曾试用过甲醇—水系统, 结果不满意。甲醇比率增加, 山茱萸的成份峰干扰芍药甙测定, 减少甲醇比率, 芍药甙峰保留时间过长, 灵敏度低。

收稿日期: 1993-12-02

Determination of Paeoniflorin and Identification of Fructus Corni in

Qijudihuang Koufuye by HPLC

Yu Hong

(Hu Qing Yu Tang Traditional Chinese Pharmaceutical Factory, Hangzhou 310002)

Abstract The content of Paeoniflorin in Qijudihuang Koufuye was determined by HPLC. The sample was extracted with butyl alcohol. The column packed with YWG C8 was used as analytical column and 13% acetonitrile as mobile phase. Detector wavelength was set at 230nm. The Fructus Corni in sample can be identified simultaneously using the same HPLC condition.

Key words Determination Identification HPLC Paeoniflorin Fructus

(on page 22)