

典方法测定含量的结果为 101.45%、101.38%、101.51%；本文方法测定含量相应为 100.19%、99.48%、100.53%。两种方法测定结果基本一致。

(六) 盐酸美沙酮口服液的含量测定

依法测定 3 批盐酸美沙酮口服液, 含量结果分别为标示量的 96.2%、96.06%、99.80%。

三、讨论

(一) 盐酸美沙酮口服液按文献^[3]方法用 pyrilamine maleate(吡拉明马来酸盐), 在未及剂此物的条件下, 我们通过选择, 用盐酸布比卡因作内标, 结果满意。

(二) 盐酸美沙酮口服液中含防腐剂尼泊金乙酯, 在测定含量时, 磷酸盐缓冲液的 pH 值对组分的分离度及保留时间有较大影响, 选择 pH2.5、3.0、3.5、4.0、4.5 进行试验, 得各溶质容量因子 K' 的对数与 pH 值的关系如图 3。由图可见, 盐酸美沙酮容量因子 K' 随 pH 升高而升高, 而尼泊金乙酯容量因子 K' 随 pH 升高略有下降, 在 pH2.5 时, 盐酸美沙酮、内标及尼泊金乙酯可完全分离。

(三) 采用 Waters 公司新产品 Synnetry-C18 色谱柱, 基线噪声小, 柱效高, 盐酸美沙酮口服液中各组分得到较好分离, 且色谱峰形对称性提高, 半峰宽也减小, 得到了较理想的色谱图。

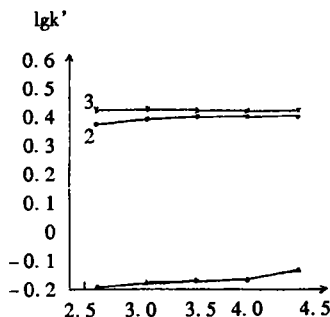


图 3 $\lg k'$ -pH 值关系图

1. 盐酸布比卡因 2. 盐酸美沙酮 3. 尼泊金乙酯

参考文献

- [1] 药典委员会. 中华人民共和国药典(1990年版二部)注释, 1993
- [2] 万文鹏等. 美沙酮替代递减法用于海洛因依赖者戒毒治疗的评估性研究. 中国药物依赖性通报, 1993;2(1): 19-24
- [3] USP X X III, 970-1

反相 HPLC 法测定月事安颗粒剂中药药甙含量

赵丽华 张霄翔* 王玉香**

(武警安徽总队医院 合肥 230041)

摘要 用反相高效液相色谱法测定中成药颗粒剂中药药甙的含量。用 C_{18} 柱为固定相, 甲醇-异丙醇-30% 醋酸-水(25:2:2:71)为流动相分离效果最佳, 平均回收率 97.25%, 相对标准偏差 2.35%。本法提取简单, 分析快速, 精确, 重现性好。

关键词 芍药甙; 反相高效液相色谱; TLC

月事安颗粒剂用于治疗妇科疾病。该冲

剂由白芍、地黄、牛膝、党参、肉桂等 10 余味中药组成, 成分复杂。为控制产品质量, 保证疗效, 对其中的有效成分芍药甙建立含量测定项。据文献报道, 芍药甙的含量测定方法

* 安徽中医学院药剂教研室

** 天长市药检所

有 HPLC 法^[1]、比包法^[2]、薄层层析法^[3]、气相色谱法^[4]、HPLC^{[5][6]}等。本文采用反相高效液相色谱法测定含量。结果满意,并对提取次数,回收率,重复性,精密度等进行了考察。

一、方法与结果

(一)鉴别试验

1. 供试品溶液的制备 取供试样品 5g,置分液漏斗中,加水 25ml 使溶解。用乙醚抽提数次(每次 15ml),至乙醚层无色,弃去乙醚层。再用水饱和正丁醇提取 3 次,每次 20ml。合并正丁醇液,水洗涤 3 次,每次 15ml,弃去水液,蒸干。残渣加乙醇 1ml 使溶解,拌入 0.3g 中性氧化铝拌匀。水浴上干燥。装入预先装填好的中性氧化铝小柱(100~200 目,1g,内径 10mm)顶端,以甲醇 40ml 洗脱。收集洗脱液,蒸干。加 0.5ml 无水乙醇使残渣溶解,作为供试品溶液。

2. 阴性对照品制备 取去白芍供试样品 5g,按“供试液的制备方法”项下操作。残渣加 0.5ml 乙醇溶解。作为阴性对照品溶液。

$$T = 26^{\circ}\text{C}$$

$$\text{RH} = 80\%$$

$$R_f = \frac{2.0}{7.3} = 0.274$$

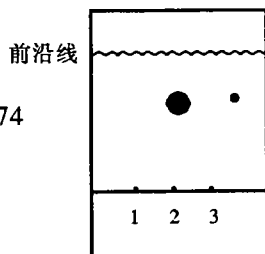


图 1 月事安颗粒剂中白芍的 TLC 图谱

1. 阴性对照品 2. 样品 3. 芍药甙对照品

3. 对照品溶液的制备 取芍药甙对照品,加乙醇制成每 1ml 含 2mg 的溶液,作为对照品溶液。

4. 展开剂和展开方法 吸取阴性对照品溶液,供试品溶液,对照品溶液各 1 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-醋酸乙酯-甲醇-甲酸(40:5:10:0.2)为展开剂,采取

上行展开方法展开。取出,晾干。喷以 5% 香草醛硫酸溶液;热风吹至斑点清晰,日光下检视。

5. 色谱识别 供试品色谱在与芍药甙对照品色谱相应的位置上,显相同的蓝紫色斑点,阴性对照品色谱无此斑点出现。

(二)含量测定

1. 仪器及试剂 高效液相色谱仪:Varian 2510 泵;2550 紫外检测器,4290 积分仪。Micro RakMCH-10 柱(30cm \times 4mm 不锈钢)10 μ l 微量进样器。

所用水为蒸馏水,甲醇为色谱纯,其它试剂均为 AR 级,芍药甙(paeoniflorin)由中国药品生物制品检定所提供。颗粒剂由厂家提供。

2. 实验条件 固定相:C₁₈柱;流动相:甲醇-异丙醇-30%醋酸-水(25:2:2:71);流速:1.0ml/min;检测波长:230nm;柱温:室温。

3. 供试品液的制备

(1)样品处理:取月事安颗粒剂 5g 精密称定,置分液漏斗中加 50ml 水,使样品溶解。用乙醚抽提数次。(每次 15ml)至乙醚层无色为止,弃去乙醚层,水层用水饱和正丁醇萃取数次。正丁醇萃取液用减压蒸馏法除去正丁醇至干。用 20ml 乙醇分数次超声洗涤残渣,洗液移至 50ml 容量瓶中,加乙醇至刻度,即得供试品溶液。

(2)样品峰面积测定:照样品处理方法,分别用水饱和正丁醇,萃取 4 次(第 1 次用正丁醇 40ml,以后每次 15ml)6 次(第 1 次用正丁醇 40ml,以后每次 15ml)得供试品溶液 1,2。经 HPLC 测定,得峰面积见表 1,所得峰面积大致相同,即浓度相近。为保证提取完全,取萃取次数以 5 次最好。

4. 阴性干扰考察 制备去白芍的月事安颗粒剂,照样品处理方法试验,在芍药甙保留时间 14.10min 处无峰出现,证明无干扰。详见图 2。

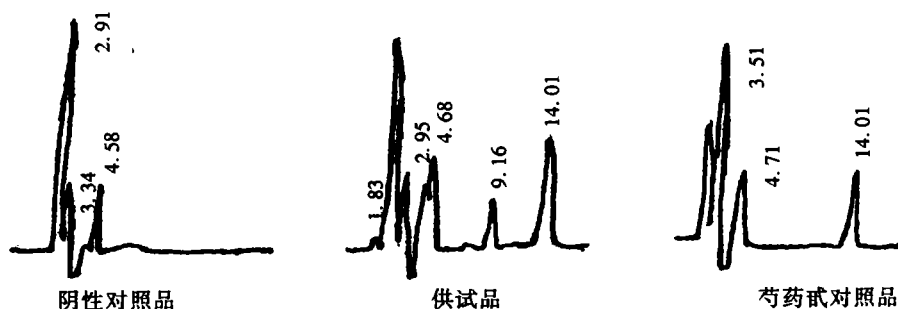


图 2 阴性对照品、供试品、芍药甙对照品 HPLC 图谱

表 1 样品峰面积测定结果

样品号	峰面积	峰面积均值
1	3897301	3860336
	3823371	
2	3902348	3882578
	3862808	

5. 仪器精密度考察 取同一含量测定用供试液,连续进样 5 次,测得峰面积值,测定结果见表 2,结果表明精密度良好。

表 2 精密度考察

进样次数	峰面积	峰面积均值	SD	RSD (%)
1	1563661	1505136.8	43668.54	2.90
2	1523467			
3	1477377			
4	1511338			
5	1449841			

6. 线性关系考察 精密称定芍药甙对照品适量,置 50ml 量瓶中,加乙醇溶解并稀

释至刻度,摇匀。分别精密取 0.5、1、2、2.5、3ml 对照品溶液至 10ml 容量瓶中,加乙醇稀释至刻度,摇匀。制成 0.063、0.126、0.252、0.315、0.378mg/ml 5 个不同浓度的溶液。按上述色谱条件各选择 10 μ l,以峰面积(Y)对浓度(X)进行一元线性回归。回归方程为 $Y = -20612 + 10668933X$, $r = 0.9998$ 。结果表明,在 0.63 μ g~3.78 μ g 范围内芍药甙含量与峰面积呈良好线性关系。

7. 重复性考察 取同一批样品,按拟定的含量测定方法平行测定 5 次,测定结果见表 3。

8. 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溶液中,照供试液制备方法项下操作。测定结果见表 4。

9. 样品含量测定 分别测定 3 批样品,测定结果见表 5。

表 3 重复性考察

样品号	峰面积	峰面积均值	芍药甙含量(mg/g)	平均含量	RSD (%)
1	1394266	1382582.5	1.3007	1.3131	2.72
	1370899				
2	1408909	1437887	1.3526		
	1466865				
3	1365594	1374984	1.2936		
	1384374				
4	1377377	1413609	1.3298		
	1449841				
5	1426633	1369865	1.2888		
	1313097				

表 4 回收率测定结果(n=5)

样品号	已知含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	SD	RSD(%)
1	2.049	2.704	4.7126	98.51			
2	2.049	2.704	4.6267	95.33			
3	2.049	2.704	4.6751	96.45	97.25	1.80	1.85
4	2.049	2.704	4.7695	100.61			
5	2.049	2.704	4.6268	95.33			

表 5 含量测定结果(n=3)

批号	样品号	峰面积(S)	峰均值(\bar{S})	供试液芍药甙浓度(mg/ml)	芍药甙含量(mg/g)	均值	RSD(%)
	1	1394266 1370899	1382582	0.13007	1.3007		
960401	2	1408909 1466865	1437887	0.13526	1.3526	1.3156	2.45
	3	1365594 1384374	1374984	0.12936	1.2936		
	1	1532330 1491232	1511781	0.14220	1.4220		
960403	2	1512142 1523112	1517627	0.14275	1.4275	1.4155	1.15
	3	1492233 1478119	1485176	0.13970	1.3970		
	1	1585825 1659371	1622598	0.15261	1.5261		
960405	2	1658923 1602568	1630745.5	0.15337	1.5337	1.5383	0.97
	3	1617550 1689230	1653390	0.15550	1.5550		

二、讨论

(一)本制剂为大复方制剂,成分复杂,干扰大且芍药甙的 λ_{\max} 为 230nm,但许多化合物,如芳香族化合物及一些具有双键的物质在 230nm 处也有吸收。因此不能采用紫外-可见分光光度法测定芍药甙含量。而 HPLC 具有分离效能高。分析速度快及仪器化等优点,故决定采用 HPLC 法测定颗粒剂中芍药甙含量。

(二)在用 HPLC 法测定中,我们曾对几组流动相系统进行选择、改进。以流动相甲醇-异丙醇-30%醋酸-水(25:2:2:71),流速

1.0ml/min 为最佳。芍药甙峰形对称、分离完全、图谱简单、空白对照无干扰。且对柱效要求不高,流动相价廉。

(三)在样品处理过程中,采用超声清洗正丁醇提取液蒸干后的残渣,能够保证芍药甙定量转移到容量瓶中,而采用其它方法效果不太好。

(四)本实验采用外标法进行含量测定,测定结果表明,标准曲线并不经过原点,因此决定采用外标两点法随行对照。

(五)运用反相 HPLC 法测定月事安颗粒剂中芍药甙含量,简便快速、精密度高、重

现性好。

参考文献

- [1]黎阳. 中草药. 1994;25(8)
[2]寿国香等. 中草药. 1994;25(11)

- [3]张庆生等. 中国中药杂志. 1991;16(9)
[4]郭亚健等. 中国中药杂志. 1994;19(1)
[5]王杰民等. 中成药. 1991;13(4)
[6]李章万等. 药物分析杂志;10(6):1990

酸性染料比色法测定小儿 化痰止咳糖浆中盐酸麻黄碱的含量

祖鲁宁

(海军 404 医院药局 威海 264200)

小儿化痰止咳糖浆是含盐酸麻黄碱的常用复方制剂,盐酸麻黄碱是其中主要成分,由于受各组分干扰,难以直接测定含量,地方标准无含量测定方法^[1,2]。本文利用麻黄碱能随水蒸气蒸馏的性质^[3,4],在碱性条件下直接蒸馏将麻黄碱分离出来,再用酸性染料比色法测其含量,方法灵敏、准确、可靠。盐酸麻黄碱在 pH5.6 磷酸盐缓冲液中与溴麝香草酚兰形成稳定的黄色络合物,其氯仿提取液在 411nm 处有最大吸收,故可对其进行比色测定。

一、仪器与试剂

UV-3000 型分光光度计(日本岛津);盐酸麻黄碱为中国药品生物制品检定所产品; pH5.6 磷酸盐缓冲液、0.05% 溴麝香草酚兰溶液按中国药典 1995 版配制;其它试剂为分析纯。

二、方法与结果

(一)供试品溶液制备 精密吸取样品液 10ml,加水 120ml,加氢氧化钠 20g,蒸馏,收集馏液约 95ml,置 100ml 量瓶中,加水至刻度。精密吸取 5ml 置分液漏斗中,精密加入磷酸盐缓冲液 2ml,溴麝香草酚兰溶液 2ml,摇匀,精密加入氯仿 10ml 振摇提取,放置 3min,分取氯仿层。同法制得氯仿空白液,分别对两提取液在 340~500nm 波长处扫描。选定最大吸收波长 411 ± 1 nm 为测定波

长。

(二)标准曲线的制备 精密称取于 105℃ 干燥至恒重的盐酸麻黄碱对照品适量,制成每 1ml 中含 0.08mg 的溶液。精密吸取 1、2、3、4、5ml,分别加水至 5ml,按供试品溶液制备项下自“置分液漏斗中”起,依法操作。经回归处理,得回归方程为 $A = 0.0152 + 0.02258C$, $R = 0.9997$ 。

(三)加样回收率试验 精取已测知含量的样品液 10ml,准确加入定量的盐酸麻黄碱对照品,按供试品溶液制备项下操作,于 411nm 测定吸收度,按回归方程计算。结果平均回收率为 99.65%, $RSD = 0.97\%$ ($N = 6$)。

(四)稳定性试验 制备的供试品溶液室温放置 24h,测定结果基本无变化。

(五)样品测定 取样品液,按供试品溶液制备项下操作,于 411nm 波长处测定吸收度,按回归方程计算,结果见表 1。

表 1 小儿化痰止咳糖浆中盐酸麻黄碱的含量测定结果

批号	标示量(%)	RSD(%) (n=3)
960212	96.77	1.01
960518	98.19	0.95
961002	101.2	0.82
961125	97.34	1.13

三、讨论与小结