

离心分配色谱法测定阿昔洛韦乳膏中主成分的含量

王书玉*, 王磊, 窦佳, 栾爽, 钱小平(大连市药品检验所, 辽宁大连 116000)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)18-2567-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.18.42

摘要 目的:建立测定阿昔洛韦乳膏中主成分含量的方法。方法:采用离心分配色谱法。溶剂体系为正己烷-乙腈-水(2:1:1, V/V/V),进样溶剂为5%吐温80水溶液,进样量为1.0 ml,流速为5 ml/min,检测波长为254 nm。结果:阿昔洛韦质量浓度在0.012 7~0.126 7 mg/ml范围内与峰面积呈良好的线性关系($r=0.998\ 7$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD $\leq 2.0\%$;平均加样回收率为97.34%,RSD为0.90%($n=9$)。结论:该方法精密性好、准确度高,可用于测定阿昔洛韦乳膏中主成分的含量。

关键词 离心分配色谱法;阿昔洛韦乳膏;含量测定

Content Determination of Aciclovir Cream by Centrifugal Partition Chromatography

WANG Shu-yu, WANG Lei, DOU Jia, LUAN Shuang, QIAN Xiao-ping(Dalian Institute for Drug Control, Liaoning Dalian 116000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of Aciclovir cream. METHODS: Centrifugal partition chromatography (CPC) was conducted. The solvent system was hexane-acetonitrile-water(2:1:1, V/V/V), the injection vehicle was an aqueous solution of 5% Tween 80 and the volume was 1.0 ml; the flow rate was 5 ml/min; the wavelength was 254 nm. RESULTS: There was a good linear relationship between quality concentration and peak area in the range of 0.012 7-0.126 7 mg/ml ($r=0.998\ 7$). The RSD of precision, stability and reproducibility tests was all no more than 2.0% and the average recovery was 97.34% (RSD=0.90%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is with high precision and accuracy, and can be used for the content determination of principal components of Aciclovir cream.

KEYWORDS Centrifugal partition chromatography; Aciclovir cream; Content determination

离心分配色谱(CPC)法属一种高速逆流色谱技术,该方法不需任何固态载体,两相均为液体,流动相在泵的作用下携带溶质以微小液滴的形态穿过固定相,实现连续分配,进而对目标组分进行分离纯化。因其分配单元不含固体填料,故对样品的预处理要求较低^[1]。其以高固定相保留、高分离速度、分离便捷等优点而得到广泛应用。CPC法以流体静力学为基础,以多层板叠加而成的水平转子为分离核心而达到更高的机械稳定性^[2],实现了逆流色谱真正意义上的高速与高效,在欧洲及日、韩等国被广泛应用于天然产物的分离制备中^[3-5]。但在国内该项技术属起步阶段,研究较少。

阿昔洛韦乳膏为嘌呤核苷类抗病毒药,临床常用于治疗单纯疱疹或带状疱疹等感染性疾病。现行质量标准中,阿昔洛韦乳膏经预处理后,采用高效液相色谱(HPLC)法测定含量^[6]。该方法操作烦琐,且乳膏基质在供试品溶液的制备过程中很难完全去除,最终可能干扰检测结果。为此,笔者采用CPC法直接测定了阿昔洛韦乳膏中主成分的含量,操作简便、结果准确,与HPLC法^[7-8]相比,具有方法学上的特定优势;且样品预处理简单,检验周期短。

1 材料

240型CPC仪,配套DC-1500C自动流分收集器、UV9000紫外检测器(日本Sanki公司);BP211D型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

阿昔洛韦对照品(中国食品药品检定研究院,批号:140630-200602,纯度:100%);阿昔洛韦乳膏(大连市皮肤病医

院自制,批号:130916、121101、091207,规格:50 mg/g);阿昔洛韦乳膏样品基质辅料(大连市皮肤病医院提供);正己烷、乙腈、吐温80均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

溶剂体系:正己烷-乙腈-水(2:1:1, V/V/V),在3 L分离漏斗充分振荡1 min,静置20 s内分层,再静置10 min,导出下层作为流动相,上层作为固定相,上、下两相各保留一定体积,以保持溶剂体系稳定。固定相流速:30 ml/min,以半径10 cm、300 r/min离心10 min,使240 ml的CPC转子彻底充满固定相;流动相流速:3 ml/min,以半径10 cm、1 200 r/min离心20 min,使固定相不再流失,CPC转子内部两相体系平衡,计算固定相保留值约80%。泵压力上限:5 MPa;温度:25 ℃;流速:5 ml/min;检测波长:254 nm;进样量:1.0 ml。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取阿昔洛韦对照品12.67 mg,置于100 ml量瓶中,加0.4%氢氧化钠溶液5 ml使溶解,加5%吐温80水溶液稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备溶液(质量浓度为0.126 7 mg/ml)。精密量取上述对照品贮备溶液10 ml,置于50 ml量瓶中,加5%吐温80水溶液稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液(质量浓度为0.025 3 mg/ml)。

2.2.2 供试品溶液 取本品内容物5支,混匀,精密称取0.1 g,置于200 ml量瓶中,加5%吐温80水溶液适量,于50 ℃水浴加热振荡使溶解,放至室温,加5%吐温80水溶液稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

2.2.3 空白溶液 精密称取阿昔洛韦乳膏样品基质辅料0.1 g,按“2.2.2”项下方法制备,即得空白溶液。

* 主管药师,硕士。研究方向:药品检验与质量标准。电话:0411-84251229。E-mail:alkaloids@163.com

2.3 空白干扰试验

分别精密吸取“2.2”项下对照品溶液、供试品溶液、空白溶液各 1.0 ml,按“2.1”项下色谱条件进样,记录色谱,详见图 1。由图 1 可见,空白溶液对测定无干扰。

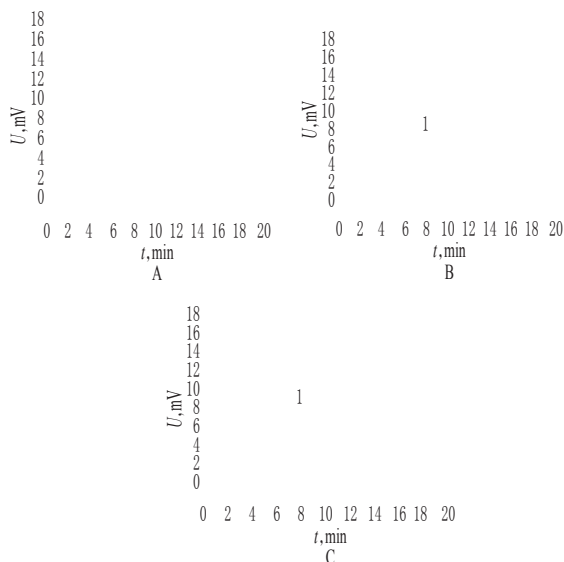


图 1 离心分配色谱图

A.空白溶液;B.对照品溶液;C.供试品溶液;1.阿昔洛韦

Fig 1 CPC chromatograms

A.blank solution;B.control solution;C.test sample solution; 1.acyclovir

2.4 线性关系考察

分别精密量取“2.2.1”项下对照品贮备溶液 1、2、4、6、8 ml,置于 10 ml 量瓶中,加 5%吐温 80 水溶液稀释至刻度,摇匀,得系列对照品溶液。取上述对照品溶液各 1.0 ml,按“2.1”项下色谱条件进样,记录色谱,以质量浓度(x , mg/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $y=605.02x+3.026$ ($r=0.9987$)。结果表明,阿昔洛韦质量浓度在 0.0127~0.1267 mg/ml 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

取“2.2.1”项下对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样 5 次,记录峰面积。结果,阿昔洛韦峰面积的 RSD 为 1.5%,表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取同一供试品溶液(批号:130916)适量,分别于放置 0、1.5、3、6、12、24 h 时,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,阿昔洛韦峰面积的 RSD 为 2.0%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验

取样品(批号:130916)6 份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,阿昔洛韦峰面积的 RSD 为 0.7%,表明本方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

精密称取阿昔洛韦对照品 50.16 mg,置于 100 ml 量瓶中,加 0.4%氢氧化钠溶液 5 ml 使溶解,加 5%吐温 80 水溶液稀释至刻度,摇匀,作为标准加入溶液(质量浓度为 0.5016 mg/ml)。取已知含量的样品(批号:130916)9 份,每份约 0.05 g,置于 50 ml 量瓶中,加 5%吐温 80 水溶液适量,于 50℃水浴加热振荡使溶解,放至室温,分别精密加入上述标准加入溶液 4、5、6 ml,加 5%吐温 80 水溶液稀释至刻度,摇匀,按“2.1”项下色谱

条件进样测定,记录峰面积,计算加样回收率,结果详见表 1。

表 1 加样回收率试验结果($n=9$)

Tab 1 Results of recovery test($n=9$)

取样量,g	已知含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
0.04861	2.376	2.006	4.308	96.29		
0.04866	2.379	2.006	4.324	96.94		
0.04903	2.397	2.006	4.360	97.84		
0.05001	2.445	2.508	4.870	96.69		
0.05147	2.516	2.508	4.975	98.05	97.34	0.90
0.05137	2.511	2.508	4.927	96.33		
0.05142	2.514	3.010	5.426	96.76		
0.05010	2.449	3.010	5.403	98.15		
0.05105	2.496	3.010	5.463	98.58		

2.9 样品含量测定

取 3 批样品适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算含量,结果详见表 2。

表 2 样品含量测定结果($n=3$)

Tab 2 Results of content determination of samples($n=3$)

序号	批号	阿昔洛韦,%
1	130916	97.71
2	121101	98.05
3	091207	97.95

3 讨论

笔者以信噪比及分析时间为考察指标,先后比较了正己烷-乙酸乙酯-甲醇-水、氯仿-水、乙酸乙酯-水、正己烷-乙腈-水等溶剂体系,最终发现以正己烷-乙腈-水(2:1:1, V/V/V)为溶剂体系,上层为固定相、下层为流动相时,两相溶剂界面张力较大,黏度较低,分层清晰,不易乳化,固定相流失极少,基线平稳,信噪比高。流动相组成截止波长小,被固定相饱和的流动相不干扰待检测成分。

利用 CPC 没有固态载体的特性,将样品制备成稳定、均匀的乳化溶液后直接进样,不仅操作简便,系统误差小,还可完全消除基质对含量测定的影响。

与传统 HPLC 法相比,该方法无需价格昂贵的色谱柱,分析后的流动相可回收重复利用,具有低耗、高效的优点,特别适合大批量检测的需要。

综上所述,该方法精密度好、准确度高,可用于测定阿昔洛韦乳膏中主成分的含量。

参考文献

- [1] 戴德舜,伍方勇,王义明,等.高速逆流色谱实验体系的选择和优化[J].分析仪器,2001(3):31.
- [2] Foucaul AP. *Centrifugal partition chromatography*[M]. New York:Marcel Dekker,1994:358-361.
- [3] 刘江,周荣琪.离心分配色谱技术及其在天然产物分离中的应用[J].化工进展,2003,22(11):1176.
- [4] Thomas M, Emilie D, Virginie P, et al. Two-step centrifugal partition chromatography (CPC) fractionation of *Butea monosperma* (Lam.) biomarkers[J]. *Separation and Purification Technology*,2011,80(1):32.
- [5] Wang L, Li YQ, Jiang BH, et al. Determination of the active ingredients in simple-recipe ointments by centrifugal partition chromatography[J]. *Analytical Methods*,2014,6(14):5245.

HPLC法测定消核糖浆中芍药苷的含量

周儒兵^{1*}, 杨帆^{2,3}, 董晓蓉^{2,3#} (1.重庆市肿瘤研究所, 重庆 400030; 2.重庆市食品药品检验所, 重庆 401121; 3.重庆市药物过程与质量控制工程技术研究中心, 重庆 401121)

中图分类号 R927.2; R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)18-2569-02

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.18.43

摘要 目的: 建立测定消核糖浆中芍药苷含量的方法。方法: 采用高效液相色谱法。色谱柱为 Waters SunFire C₁₈, 流动相为乙腈-0.1% 磷酸溶液 (12:88, V/V), 流速为 1.2 ml/min, 检测波长为 230 nm, 柱温为 30 ℃, 进样量为 10 μl。结果: 芍药苷进样量在 0.061 0~1.220 8 μg 范围内与其峰面积呈良好的线性关系 ($r=0.999\ 9$); 精密度、稳定性、重复性试验的 RSD < 2%; 平均加样回收率为 98.77% (RSD=1.09%, $n=6$)。结论: 该方法简便、快速, 结果准确, 可作为消核糖浆中芍药苷的含量测定方法。

关键词 消核糖浆; 芍药苷; 高效液相色谱法; 含量测定

Content Determination of Paeoniflorin in Xiaohe Syrup by HPLC

ZHOU Ru-bing¹, YANG Fan^{2,3}, DONG Xiao-rong^{2,3} (1.Chongqing Cancer Institute, Chongqing 400030, China; 2. Chongqing Institute for Food and Drug Control, Chongqing 401121, China; 3.Chongqing Engineering Center for Pharmaceutical Process and Quality Control, Chongqing 401121, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for determining the content of paeoniflorin in Xiaohe syrup. METHODS: HPLC method was adopted. The Waters SunFire C₁₈ column was used with the mobile phase of acetonitrile-0.1% phosphoric acid (12:88, V/V) at the flow rate of 1.2 ml/min; the detection wavelength was 230 nm with column temperature at 30 ℃. Sample size was 10 μl. RESULTS: There was a good linear relationship between the amount of paeoniflorin and peak area in the range of 0.061 0-1.220 8 μg ($r=0.999\ 9$). The RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all less than 2% and the average recovery was 98.77% (RSD=1.09%, $n=6$). CONCLUSIONS: The method is simple, rapid and accurate and can be used for the content determination of paeoniflorin in Xiaohe Syrup.

KEYWORDS Xiaohe syrup; Paeoniflorin; HPLC; Content determination

消核糖浆是由白芍、夏枯草、丹参等 12 味药经提取制成, 具有活血疏肝、散结止痛的功效, 用于乳房疼痛、乳腺增生等乳腺疾病的治疗。消核糖浆收载于《重庆市医疗机构制剂规范》(2008 年版), 无含量测定项, 质量控制不完善。笔者参考文献资料^[1-6], 经试验考察, 建立了以高效液相色谱 (HPLC) 法测定消核糖浆中白芍的活性成分芍药苷含量的方法, 为提高其质量控制标准提供参考。

1 材料

1.1 仪器

1100 型 HPLC 仪, 含可变波长检测器、ChemStation 色谱工作站 (美国 Agilent 公司); BP211S 型电子天平 (北京赛多利斯仪器系统有限公司); Simplicity-185 型超纯水机 (美国 Millipore 公司)。

1.2 药品与试剂

消核糖浆 (重庆市肿瘤研究所自制, 批号: 131024、

131212、140220, 规格: 250 ml/瓶); 芍药苷对照品 (中国食品药品检定研究院, 批号: 110736-201035, 纯度: 96.5%); 乙腈 (色谱纯, 美国 Fisher 公司); 甲醇 [分析纯, 重庆川东化工 (集团) 有限公司]; 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Waters SunFire C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1% 磷酸溶液 (12:88, V/V); 流速: 1.2 ml/min; 检测波长: 230 nm; 柱温: 30 ℃; 进样量: 10 μl。在此色谱条件下, 供试品中芍药苷色谱峰分离良好, 详见图 1。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取芍药苷对照品 0.012 65 g, 置于 100 ml 量瓶中, 加 50% 甲醇溶解并定容, 作为对照品贮备液; 精密量取对照品贮备液 5 ml, 置于 10 ml 量瓶中, 加 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。

[6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 二部[S]. 2010 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 391.

[7] 马力, 程斌, 岑丽. 高效液相色谱法测定复方阿昔洛韦乳

* 主管药师。研究方向: 药品质量控制。电话: 023-65359279
通信作者: 高级工程师。研究方向: 药品质量检测与质量控制。电话: 023-86072723。E-mail: 406601823@qq.com

膏中阿昔洛韦和甲硝唑的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2005, 25(7): 636.

[8] 谢爱丽, 王维. 高效液相色谱法测定阿昔洛韦乳膏 (II) 中阿昔洛韦的含量[J]. 海峡药学, 2013, 25(4): 41.

(收稿日期: 2014-10-14 修回日期: 2015-03-18)

(编辑: 陈宏)