

HPLC 测定青萆伯喹片中萆酚喹的含量

詹利之¹,杨家庆¹,林燕芳¹,杨兆丽¹,詹爱琼²,张美义¹,李国桥¹
(1. 广州中医药大学青蒿研究中心,广州 510405;
2. 广州中西医结合医院药剂科中心药房,广州 510800)

[摘要] 目的:建立高效液相色谱法测定青萆伯喹片中萆酚喹含量。方法:采用 Diamonsil ODS C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);乙腈-0.25% 二乙胺溶液(磷酸调节 pH 至 2.5)(23:77)为流动相,流速 0.8 mL·min⁻¹,检测波长为 342 nm,柱温 25 ℃。结果:萆酚喹在 0.16~0.8 mg·L⁻¹与峰面积呈良好的线性关系($r=0.999\ 976,n=5$),平均加样回收率为 99.56%,RSD 0.32% ($n=9$)。结论:该法操作简便、准确,适用于复方制剂青萆伯喹片中萆酚喹的含量测定。
[关键词] 含量测定;高效液相色谱法;青萆伯喹片;萆酚喹
[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)20-0103-03

Determination of Naphthoquinone in Artemisinin Naphthoquinone
Primaquine Tablets by HPLC

ZHAN Li-zhi¹, YANG Jia-qing¹, LIN Yan-fang¹, YANG Zhao-li¹,
ZHAN Ai-qiong², ZHANG Mei-yi¹, LI Guo-qiao¹
(1. Research Center for Artemisia Annual L., Guangzhou University of Chinese Medicine,
Guangzhou 510405, China; 2. Central pharmacy of Pharmacy Department, Guangzhou
Hospital of Integrated Traditional and Western Medicine, Guangzhou 510800, China)

[Abstract] Objective: To establish an HPLC method for the determination of naphthoquinone in antimalaria drug Artemisinin Naphthoquinone Primaquine Tablets. Method: The assay was performed by a Diamonsil ODS C₁₈ column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) and a mobile phase of acetonitrile-0.25% diethylamine with radio of 23:77 (pH 2.5, adjusted with phosphoric acid), and the flow rate was 0.8 mL·min⁻¹. The wavelength of detector was

[收稿日期] 20120326(011)
[第一作者] 詹利之,主管药师,从事药物制剂与新药开发研究,Tel:020-36585428,E-mail:zhanwenzhi@hotmail.com

[参考文献]

[1] 谭同来,刘庆林.常用中药配伍与禁忌[M].太原:山西科学技术出版社,2006.

[2] 周德生.常用中药配伍与名方精要[M].太原:山西科学技术出版社,2006.

[3] 明·朱棣.普济方[M].北京:人民卫生出版社,1959.

[4] 中国药典.一部[S].2010:171,229.

[5] 赵小艳,吕武清.陈皮的研究概况[J].中国药业,2006,15(15):69.

[6] 王元清,严建业,师白梅,等.不同批次枳壳中柚皮苷、新橙皮苷、总黄酮、挥发油的含量比较及质量评价[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(7):146.

[7] 胡志军,陈建秋. HPLC 测定不同基原陈皮药材中橙

皮苷的含量[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(10):95.

[8] 魏惠珍,谢菲,饶毅,等.内标多控法测定枳实、枳壳、青皮和陈皮中黄酮类成分含量[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(14):75.

[9] 张金莲,何敏,谢一辉,等.高效液相色谱法测定枳壳饮片中柚皮苷、橙皮苷、新橙皮苷的含量[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(6):68.

[10] 杨武亮,李越峰,任燕冬,等.枳壳中黄酮提取方法的比较[J].江西中医学院学报,2005,17(2):35.

[11] 蔡萍,张水寒,肖娟,等. HPLC 测定湖南道地药材陈皮中橙皮苷的研究[J].中医药导报,2006,13(4):65.

[责任编辑 顾雪竹]

set at 342 nm and the column temperature was maintained at 25 ℃. **Result:** Naphthoquinone has a good linearity in the rang of 0.16-0.8 μg ($r = 0.999\ 9$), and the average recovery was 99.56% with RSD of 0.32% ($n = 9$). **Conclusion:** The method was simple, accurate and suitable for the determination of naphthoquinone in Artemisinin Naphthoquinone Primaquine Tablets.

[**Key words**] quantitative determination; HPLC; Artemisinin Naphthoquinone Primaquine Tablets; naphthoquinone

青萘伯喹片由青蒿素,萘酚喹与磷酸伯氨喹 3 种原料药组成,是广州中医药大学李国桥教授在快速灭源灭疟(FEMSE)临床的基础上完成的新一代复方制剂,首次应用萘酚喹而非磷酸萘酚喹治疗疟疾,是全球青蒿素复方中提出既低毒、治愈率高,又可以迅速阻断疟疾传播的药物。卫生部部颁标准^[1]测定磷酸萘酚喹原料采用非水滴定法,本单位在研制萘酚喹时成功采用非水溶液滴定法进行含量测定^[2],并与 HPLC^[2]进行比较,而复方制剂中 HPLC^[3-4]测定萘酚喹的方法未见有文献报道。本实验建立一种 HPLC 法^[5-6]测定青萘伯喹片中萘酚喹的含量,专属性强,准确度高,操作简便。

1 材料

岛津 LC-10ATVP 型高效液相色谱仪(SIL-10ADVP 自动进样器,SPD 二极管阵列检测器,CLASS-VP 数据处理系统),电子分析天平(德国赛多利斯),CSF-1A 型超声发生器(汕头超声电子)。萘酚喹对照品由本实验自制,含量为 99.7%,批号 20071210;乙腈为色谱纯,试验用水为超纯水,其他试剂为分析纯。青萘伯喹片(批号 20110415,20110416,20110417)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Diamonsil ODS C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈-0.25% 二乙胺溶液(磷酸调节 pH 2.5)(23:77),流速 0.8 mL·min⁻¹,柱温 25 ℃,检测波长 342 nm,进样量 20 μL,理论塔板数不低于3 000。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 取萘酚喹对照品适量,精密称定,用 0.05 mol·L⁻¹ 盐酸溶液稀释成 20 μg·L⁻¹ 的溶液,摇匀,作为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取青萘伯喹片 20 片,精密称定,研细,精密称取适量(约相当于萘酚喹 25 mg)置 25 mL 量瓶中,加 0.05 mol·L⁻¹ HCl 溶液适量,超声处理 10 min,放冷,加上述溶液至刻度,摇匀,滤过,精密量取续滤液 1 mL 置 50 mL 量瓶中,用同种溶剂稀释至刻度,摇匀,0.45 μm 微孔滤膜滤过,作为供

试品溶液(约相当于萘酚喹 20 μg·L⁻¹)。

2.3 系统适用性试验 精密量取 2.2 项下的对照品溶液和供试品溶液各 20 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图,另按处方制备萘酚喹空白供试品溶液,同法进样。结果表明,在与对照品相同的位置,供试品溶液 HPLC 图显示尖锐的色谱峰,而空白溶液在相同位置无干扰,说明方法的专属性良好。

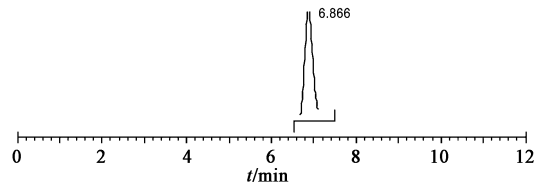


图 1 萘酚喹对照品溶液色谱

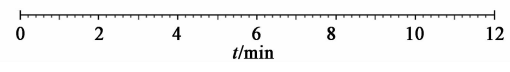


图 2 空白溶液色谱

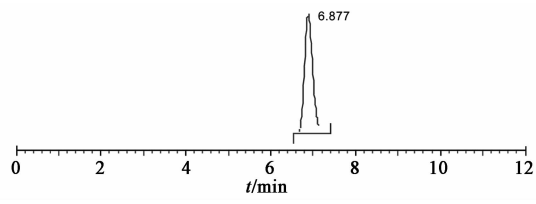


图 3 供试品溶液色谱

2.4 线性试验 精密称取萘酚喹适量,加 0.05 mol·L⁻¹ HCl 溶液制成每 mL 含萘酚喹 2.5 mg 的对照品贮备液。精密量取 1 mL 置 25 mL 量瓶中,加 0.05 mol·L⁻¹ HCl 溶液至刻度,摇匀,即可。滤过,取续滤液 1 mL,置 25 mL 量瓶中,用 0.05 mol·L⁻¹ HCl 稀释至刻度,摇匀,分别设定 8,12,16,20,24 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图。回归方程为 $Y = 3.196\ 38 \times 10^6 X - 17\ 344.7$ (Y 为峰面积, X 为进样量), $R^2 = 0.999\ 9$ ($n = 5$)。线性结果表明,萘酚喹在 0.16~0.8 μg 线性良好,可满足测定的要求。

2.5 重复性试验 取同一批供试品,照 2.2.2 项下方法,分别制备供试品溶液 6 份,同法测定,计算得含量平均值为 99.4%,RSD 0.6%。

2.6 加样回收试验 取已知含量的同一批供试品,

精密称取片粉适量(约相当于萘酚喹 12.5 mg)共 9 份,每 3 份为 1 组,每组按低、中、高 3 个质量浓度,精密量取 2.5 mg·L⁻¹萘酚喹贮备液 4,5,6 mL 各 3 份,置入 25 mL 量瓶中,加 0.05 mol·L⁻¹ HCl 溶液适量,超声处理 10 min,放冷,加 0.05 mol·L⁻¹ HCl 溶液至刻度,摇匀,滤过,精密量取续滤液 1 mL,置 25 mL 量瓶中,用同种溶剂至刻度,摇匀,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,作为供试品溶液。

精密量取供试品溶液、对照品溶液各 20 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图,按外标法计算回收率。结果表明,以 HPLC 法测定萘酚喹的平均回收率符合要求。见表 1。

表 1 萘酚喹加样回收率试验

No.	取样量 /g	样品中 含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1	0.026 35	11.46	10.00	21.29	98.3	99.03	0.67
2	0.028 60	12.43	10.00	22.36	99.3		
3	0.029 12	12.66	10.00	22.52	98.6		
4	0.028 85	12.54	12.50	24.88	98.7		
5	0.027 89	12.13	12.50	24.48	98.8		
6	0.028 74	12.50	12.50	25.06	100.5		
7	0.028 46	12.37	15.00	27.16	98.6		
8	0.029 03	12.62	15.00	27.55	99.5		
9	0.027 94	12.15	15.00	27.00	99.0		

2.7 检测限与定量限 制备青蔡伯喈片供试品溶液,按检测限信噪比为 3:1,定量限信噪比为 10:1 时相应浓度稀释样品,精密量取各 20 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图。结果测得萘酚喹的检测限与定量限分别为 0.5 × 10⁻³,1.6 × 10⁻³ μg。

2.8 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于 0,2,4,6,8,12 h 取样测定,记录色谱图。计算得萘酚喹的峰面积 RSD(n = 6)为 1.3%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.9 样品测定 取本品 3 批,照 2.2.2 项下方法制

备供试品溶液。精密量取对照溶液和供试品溶液各 20 μL,注入液相色谱仪,记录色谱图,按外标法计算供试品含量,结果见表 2。

表 2 样品中萘酚喹的含量测定(n = 3)

批号	标示量/%	RSD /%
20110415	99.2	0.26
20110416	100.2	0.85
20110417	100.6	1.13

3 讨论

有文章报道关于复方磷酸萘酚喹片中磷酸萘酚喹与青蒿素的有关物质与含量测定方法^[3-4]。

取萘酚喹对照品溶液,于 190 ~ 400 nm 扫描,结果萘酚喹在 200,222,253,342 nm 波长处有最大吸收,由于近紫外区不稳定,故选用 342 nm 作为检测波长。

[参考文献]

[1] 中华人民共和国卫生部部颁标准(暂行)[S]. 磷酸萘酚喹质量标准(WS-84(X-67)-93 1993).

[2] 杨家庆,詹利之,林燕芳,等. 非水溶液滴定法测定抗药萘酚喹的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(5): 104.

[3] 张玉英,潘锡强. HPLC 法同时测定复方萘酚喹片中磷酸萘酚喹和甲氧苄啶的含量[J]. 中国现代应用药学杂志,2000,17(6): 472.

[4] 彭茗,宋冬梅,杨永健,等. RP-HPLC 法测定磷酸萘酚喹的有关物质及含量[J] 中国新药杂志,2010,19(10): 897.

[5] 李鑫健,方卒芬,祝明. HPLC 法同时测定利胆排石片中 大黄素、大黄酚、及大黄素甲醚[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(23): 82.

[6] 杨青,郭炎荣. RP-HPLC 法测定盐酸洛美沙星滴眼液的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(4): 24.

[责任编辑 顾雪竹]