

HPLC 测定复方矮地茶片中岩白菜素的含量

龙海燕^{1*}, 李慧², 黄晓燕¹, 李文莉¹

(1. 湖南省药品检验所, 长沙 410001; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 建立复方矮地茶片中岩白菜素的含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法, Agilent C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250mm, 5 μm), 流动相甲醇-水 (20:80); 流速 1.0 mL·min⁻¹; 柱温 35℃; 检测波长 275 nm。结果: 岩白菜素在 0.050 72 ~ 0.760 8 μg 呈良好线性关系 ($r=0.999\ 9$), 平均回收率 100.6% ($n=6$), RSD 1.8%。结论: 本文建立的含量测定方法简便、准确, 重复性好, 可有效控制复方矮地茶的质量。

[关键词] 复方矮地茶片; 岩白菜素; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)09-0041-03

Determination of Bergenin in Compound Fufangaidicha Tablet by HPLC

LONG Hai-yan^{1*}, LI Hui², HUANG Xiao-yan¹, LI Wen-li¹

(1. Hunan Institute for Drug Control, Changsha 410001, China; 2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] Objective: To establish a HPLC method for determination of bergenin in compound Fufangaidicha Tablet. **Method:** Bergenin was determined by HPLC. Agilent DB-C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) was used. The mobile phase consisted of methanol-water (20:80). The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. The column temperature was at 35℃; The detection wavelength was at 275 nm. **Result:** The linear ranges of Bergenin was in 0.050 72 ~ 0.760 8 μg ($r=0.999\ 9$), the average recovery ($n=9$) was 100.6% with RSD 1.8%. **Conclusion:** The method can be used for the quality control of Fufangaidicha Tablets.

[Key words] Fufangaidicha Tablets; bergenin; HPLC

复方矮地茶片收载于《卫生部药品标准中药成方制剂第九册》, 由矮地茶、岗梅、野菊花、枇杷叶、甘草等中药组成, 具有清热解毒, 化痰止咳的功效^[1]。现行质量标准中仅有化学鉴别和显微鉴别, 无含量测定项。岩白菜素是矮地茶中指标性成分, 具有镇咳驱痰作用。现有文献中, 对不同含岩白菜素的药材及其复方制剂中岩白菜素的含量测定多有报道^[2-5], 但对复方矮地茶片中岩白菜素的含量测定未见报道。为了更好控制本品的质量, 本文建立了用高效液相色谱法测定复方矮地茶片中岩白菜素的含

量的方法, 为进一步完善该制剂的质量标准提供依据。

1 仪器与试剂

Waters 1525 高效液相色谱仪 (两元泵、在线真空脱气机、自动进样器、柱温箱、PDA 检测器); Mettler AE-240 电子天平 (瑞士梅特勒-托利多公司); CG-300 (300 W, 25 kHz) 超声波清洗仪。

岩白菜素对照品 (批号 111532-200202, 含量测定用) 由中国药品生物制品检定所提供。复方矮地茶片 7 批样品中, 批号 20080514, 20080515, 20080516 由九芝堂股份有限公司提供, 批号 080301, 080302, 080303, 080401 由湖南飞鸽药业有限公司提供。重蒸馏水自制, 乙腈、甲醇为色谱纯, 均经 0.45 μm 滤膜过滤, 其他试剂均为分析纯。

[收稿日期] 20100330(001)

[基金项目] 国家药品标准提高行动计划研究工作

[通讯作者] * 龙海燕, Tel: 0731-82275853, E-mail: fyules@ sina.com

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 Agilent DB C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相 甲醇-水 (20:80); 流速 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长 275 nm; 进样量 10 μL; 理论板数按岩白菜素峰计算应不低于 3000。在此条件下, 岩白菜素对照品、复方矮地茶片样品及阴性对照溶液的色谱图见图 1。

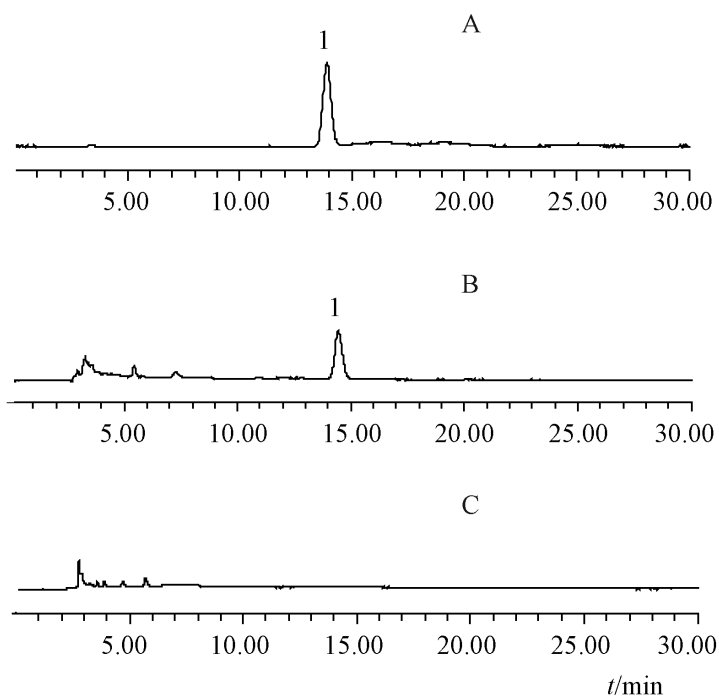


图 1 复方矮地茶片高效液相色谱图

A. 对照品; B. 样品; C. 阴性样品; 1. 岩白菜素

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 取岩白菜素对照品适量, 精密称取, 加 70% 甲醇制成 0.05 g·L⁻¹ 的溶液, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品 10 片, 除去糖衣, 精密称定, 研细, 取约 0.15 g, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加入 70% 甲醇 20 mL, 超声处理 (300 W, 25 kHz) 45 min, 放冷, 加 70% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.3 阴性对照液的制备 按处方称取缺矮地茶

的其余各药材适量, 制成缺矮地茶的阴性对照样品, 同法制备缺矮地茶的阴性对照溶液。

2.3 线性关系考察 精密吸取对照品溶液 (0.050 72 g·L⁻¹) 1, 2, 5, 10, 15 μL 注入液相色谱仪, 测定, 以峰面积积分值为纵坐标, 进样量为 (μg) 为横坐标, 绘制标准曲线。其回归方程为 $Y = 1 \times 10^6 X + 16\ 839$, $r = 1$ 。岩白菜素对照品在 0.050 72 ~ 0.760 8 μg 线性关系良好。

2.4 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液 (批号 20080516), 进样 6 次, 每次 10 μL, 测定, 峰面积积分值 RSD 0.5%, 结果表明仪器精密度良好。

2.5 重复性试验 取同一批号 (20080516) 样品, 依法制备 5 份供试品溶液, 测定, 岩白菜素的平均含量为 3.43 mg/片, RSD 0.8%, 结果表明本方法重复性较好。

2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液, 分别于配制后的 0, 4, 6, 8, 16, 24 h, 精密吸取 10 μL, 注入液相色谱仪, 测定, 其岩白菜素峰面积积分值的 RSD 为 2.2%, 结果表明供试品溶液在配制后 24 h 内基本稳定。

2.7 检测限 精密吸取对照品溶液 0.1 μL, 注入液相色谱仪, 测定, 信噪比约为 3, 故检测限为 5.7 ng。

2.8 定量限 精密吸取对照品溶液 0.3 μL, 注入液相色谱仪, 测定, 信噪比约为 10, 故定量限为 17.2 ng。连续测定 6 次, RSD 为 1.7%。

2.9 加样回收率试验 取已测定含量的同一批号 (20080516) 样品约 0.08 g, 共 6 份, 分别精密称定, 精密加入对照品适量, 依法制备供试品溶液, 测定并计算平均回收率为 100.61%, RSD 为 1.8%, 结果表明本方法回收率良好, 见表 1。

表 1 复方矮地茶片中岩白菜素的回收率测定

No.	称样量/g	样品中量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
1	0.082 10	0.750 4	0.572 0	0.590 0	103.3		
2	0.082 53	0.754 3	0.572 0	0.561 1	98.1		
3	0.083 66	0.764 7	0.572 0	0.581 4	101.7		
4	0.083 04	0.761 6	0.572 0	0.573 6	100.3	100.6	1.8
5	0.082 89	0.760 2	0.572 0	0.576 8	100.8		
6	0.083 25	0.763 5	0.572 0	0.569 0	99.5		

2.10 样品含量测定 按上述样品溶液制备方法 & 色谱条件, 测定 7 批复方矮地茶片样品, 结果见表 2。

3 讨论

考察了甲醇-水、乙腈-水等流动相, 结果 2 种流

表 2 复方矮地茶片样品中岩白菜素测定 mg/片

批号	岩白菜素
20080514	3.27
20080515	3.51
20080516	3.43
080301	1.99
080302	1.96
080303	1.86
080401	1.86

动相所得岩白菜素色谱峰的分离效果、理论板数及对称性均较好,因甲醇毒性较小,故选择甲醇-水为流动相。

精密吸取对照品溶液 10 μ L,注入液相色谱仪,于 200 ~400 nm 波长扫描,结果岩白菜素在 215.9, 272.5 nm 波长处有最大吸收,因《中国药典》2005 年版一部“矮地茶”项下含量测定选择 275 nm 波长为检测波长^[6],故选择检测波长为 275 nm。

考察了甲醇、70% 甲醇、50% 甲醇、20% 甲醇、水分别作为提取溶剂,采用超声 15, 30, 45, 60 min 和加热回流 30 min 分别作为提取方法,并比较各色谱图中主峰的峰形及理论板数,岩白菜素的得率,结果表明,以 70% 甲醇为溶剂超声处理 45 min,能将复方矮地茶片中的岩白菜素提取完全,且主峰理论板数较高,对称性好,故选之。

复方矮地茶片全国仅有湖南九芝堂股份有限公司与湖南飞鸽药业有限公司生产两家单位生产,含量测定样品覆盖了所有生产企业。因《中国药典》

中“矮地茶”药材的含量限度仅有低限规定,故复方矮地茶片的含量限度以两家单位提供的 8 批样品的平均含量为基础进行规定:即所测样品平均值为 2.23 mg/片,按平均值的 8 折计算限度为 1.8 mg/片;但九芝堂有限公司提出应考虑药材含水量(矮地茶药材水分限度为 12.0%),将限度定为 1.5 mg/片,按照《中国药典》2005 年版一部“矮地茶”项下限度规定折算,理论转移率为 54%。矮地茶药材在本品[制法]中为采取水煎煮提取工艺的药味,转移率较高。故认为该限度的制定,能起到有效控制质量的作用。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 卫生部药品标准中药成方制剂第九册[S]. 北京:化学工业出版社, 1994: 136.
- [2] 王其勇,熊慧林. 高效液相色谱法测定岩陀中岩白菜素的含量[J]. 贵阳中医学院学报, 2009(2): 78.
- [3] 陈乃江,王统康. 高效液相色谱法测定支气管炎片中岩白菜素的含量[J]. 吉林中医药, 2008(28): 918.
- [4] 文德鉴,赵晖,奚胜艳,等. HPLC 法测定地茶咳喘露中岩白菜素的含量[J]. 中华中医药杂志, 2008(23): 890.
- [5] 王光发,廖正银,梁新丽,等. HPLC 测定岩白菜及四臣止咳颗粒中岩白菜素的含量[J]. 中成药, 2009(31): 1799.
- [6] 国家药典委员会. 中国药典[S]. 一部. 北京:化学工业出版社, 2005: 251.

[责任编辑 顾雪竹]