

# HPLC-ELSD 法测定皖贝止咳胶囊中贝母素甲 和贝母素乙的含量

张 洁, 李成网\*

(安徽省医学科学研究所, 安徽 合肥 230061)

[摘要] 目的: 建立皖贝止咳胶囊中贝母素甲和贝母素乙的含量测定方法。方法: 采用迪玛 C<sub>18</sub> 柱, 乙腈-0.1% 三乙胺溶液 (70:30) 为流动相; ELSD 参数: 漂移管温度: 93 ℃, 载气流量: 2.2 mL·min<sup>-1</sup>。结果: 贝母素甲的回收率为 97.35%, RSD= 1.24% (n= 5); 贝母素乙的回收率为 97.46%, RSD= 1.27% (n= 5)。结论: 本法简便、快速、重复性好, 可作为制剂的定量分析方法。

[关键词] 皖贝止咳胶囊; 贝母素甲; 贝母素乙; 高效液相色谱-蒸发光散射检测器

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)05-0003-03

## Determination of Verticine and Verticinone in Wanbei Zhike capsule by HPLC-ELSD

ZHANG Jie, LI Cheng-wang\*

(Anhui Academy of Medical Sciences, Hefei 230061, China)

[Abstract] **Objective:** To develop an HPLC-ELSD method for the determination of verticine and verticinone in Wanbei Zhike capsule. **Methods:** The analysis was carried out on a Dikma C<sub>18</sub> analytical column with the mobile phase consisting of acetonitrile-0.1% diethylamine (70:30). The detector drift tube temperature was set at 93 ℃ and the nitrogen flow rate was 2.2 mL·min<sup>-1</sup>. **Results:** The recoveries for verticine and verticinone were 97.35% and 97.46% with RSD 1.24% and 1.27% (n= 5). **Conclusion:** The developed method is simple, rapid, replicable, and can be used for the quality control of the preparation.

[Key words] Wanbei Zhike capsule; verticine; verticinone; HPLC-ELSD

皖贝止咳胶囊为皖贝母提取物制成的制剂,为 5 类中药新药,现已批准生产。具有清热、化痰、止咳的功效,用于痰热咳嗽,及急、慢性支气管炎。其主要有效成分为皖贝母总生物碱,总生物碱主要由贝母素甲、贝母素乙、贝母辛、异贝母素甲等组成,皖贝止咳胶囊标准中收录了皖贝总生物碱(紫外分光光度法)和贝母素甲(薄层扫描法)的含量测定,由于贝母素甲和贝母素乙不仅是主要生物碱而且有法定对照品,因此选定其作为含量测定指标,但皖贝止咳胶囊中贝母素甲和贝母素乙的高效液相色谱测定未见报道,高效液相色谱法方便、准确,因此在参考文献的基础上采用高效液相色谱法对皖贝止咳胶囊中的贝母素甲和贝母素乙进行测定,经方法学研究表明本法简便、准确、重复性好,进一步为该药的质量控制提供了依据。

### 1 仪器与试剂

仪器 Agilent1100 高效液相色谱仪,包括:四元泵,在线脱气机,柱温箱,化学工作站(chimstation system 工作站),Alltech2000ELSD 检测器;梅特勒 AG285 分析天平;AD-2 型百万分之一电子天平(美国 PE 公司);贝母素乙(中国药品生物制品检定所提供,批号:110751-200303);贝母素甲(中国药品生物制品检定所提供,批号:750-8904);皖贝止咳胶囊和阴性制剂(三九医药股份有限公司深圳南方制药厂提供,批号:040305,040311,040315) 甲醇、乙腈:HPLC 级,美国天地(TEDIA)试剂公司。

### 2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱:迪玛(4.6 mm × 150 mm, 5 μm) 流动相:乙腈-0.1% 三乙胺溶液(70:30);流速:

1.0 mL · min<sup>-1</sup>;柱温:30 °C,进样量:20 μL;ELSD 参数:漂移管温度:93 °C,载气流量:2.2 mL · min<sup>-1</sup>。取供试品溶液 20 μL,注入液相色谱仪,测定。分离结果见图 1。

2.2 对照品溶液制备 精密称取对照品贝母素甲 5.875 mg,贝母素乙 6.650 mg,置 25 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得混合对照品储备液(贝母素甲 0.235 mg · mL<sup>-1</sup>,贝母素乙 0.266 mg · mL<sup>-1</sup>),备用。

2.3 供试品溶液的制备 取胶囊内容物,研细(过四号筛)约 0.2 g,精密称定,置烧瓶中,加浓氨试液 4 mL 浸润 1 h,精密加入三氯甲烷-甲醇(4:1)的混合溶液 40 mL,称定重量,混匀,置 80 °C 水浴中加热回流 1 h,放冷,再称定重量,加上述混合溶液补足减失的重量,滤过。精密量取续滤液 20 mL,置蒸发皿中蒸干,残渣加甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.4 阴性样品溶液的制备 取缺皖贝母总碱的阴性制剂,按 2.3 项下的方法制备,取缺皖贝阴性样品,研细(过四号筛)约 0.2 g,精密称定,置烧瓶中,加浓氨试液 4 mL 浸润 1 h,精密加入三氯甲烷-甲醇(4:1)的混合溶液 40 mL,称定重量,混匀,置 80 °C 水浴中加热回流 1 h,放冷,再称定重量,加上述混合溶液补足减失的重量,滤过。精密量取续滤液 20 mL,置蒸发皿中蒸干,残渣加甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.5 线性关系考察 精密吸取混合对照品储备液(贝母素甲 0.235 mg · mL<sup>-1</sup>,贝母素乙 0.266 mg · mL<sup>-1</sup>) 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 mL 置 10 mL 的量瓶中,加甲

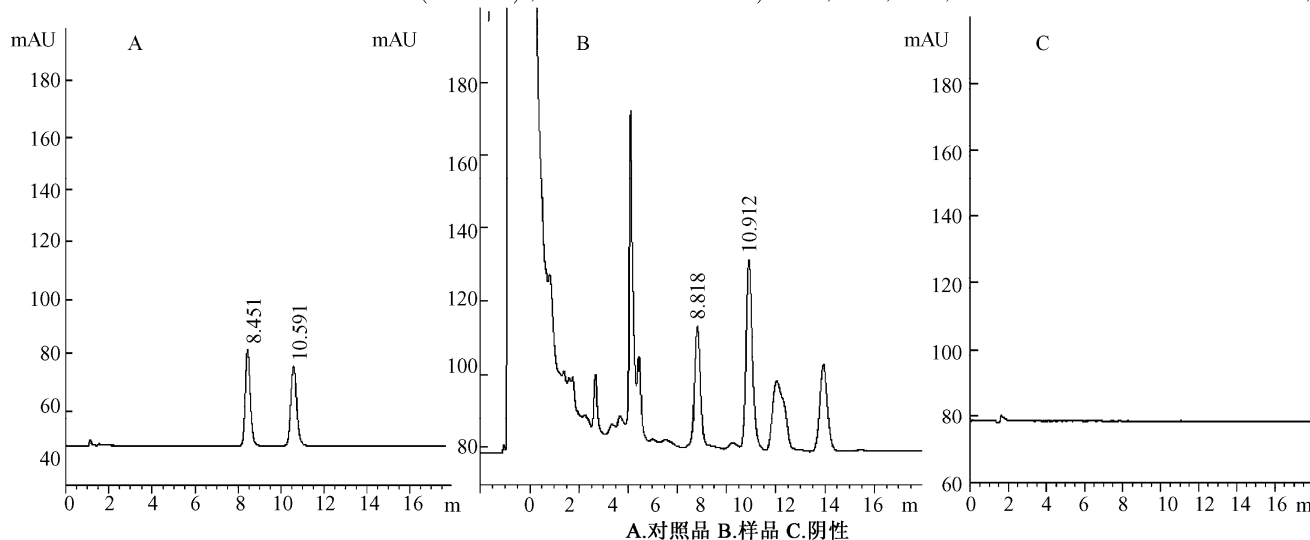


图 1 皖贝止咳胶囊 HPLC 色谱图

醇定容至刻度, 摇匀。分别进样 20  $\mu\text{L}$ , 记录各峰峰面积, 以对照品峰面积的自然对数值为纵坐标, 以对照品质量浓度( $\rho$ ,  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )的自然对数值为横坐标, 进行线性回归, 得线性回归方程: 贝母素甲:  $Y=1.5206X-0.2498, r=0.9990, (n=5)$ ; 贝母素乙:  $Y=1.4975X-0.2791, r=0.9990, (n=5)$ ; 结果表明, 贝母素甲在 23.5~235  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 贝母素乙在 26.6~266  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  内呈良好的线性关系。

**2.6 稳定性试验** 取同一样品溶液, 分别于 0, 2, 4, 6, 8 h 进样, 测定其中贝母素甲和贝母素乙的含量, RSD 分别为 1.95%, 1.75%, 说明贝母素甲和贝母素乙在 8 h 内稳定。

表 1 加样回收率试验结果

样品	样品含量(mg)		对照品加入量(mg)		测得量(mg)		回收率(%)		平均回收率(%)		RSD(%)	
	贝母素甲	贝母素乙	贝母素甲	贝母素乙	贝母素甲	贝母素乙	贝母素甲	贝母素乙	贝母素甲	贝母素乙	贝母素甲	贝母素乙
1	0.3895	0.9295	0.3482	0.7369	0.7273	1.6324	97.01	95.39				
2	0.4235	1.0105	0.3482	0.7369	0.7644	1.7372	97.90	98.62				
3	0.3773	0.8908	0.3482	0.7369	0.7169	1.6113	98.68	97.77	96.99	96.78	1.39	1.57
4	0.3844	0.9172	0.3482	0.7369	0.7166	1.6179	95.40	95.09				
5	0.4061	0.9690	0.3482	0.7369	0.7402	1.6840	95.95	97.03				

**2.10 样品的测定** 精密吸取对照品溶液 10  $\mu\text{L}$  和 20  $\mu\text{L}$  供试品溶液 10~20  $\mu\text{L}$ , 按上述色谱条件测定, 以外标两点法对数方程计算贝母素甲和贝母素乙含量, 结果见表 2。

表 2 样品中贝母素甲和贝母素乙含量( $n=3$ )

批号	贝母素甲	贝母素乙	贝母素甲	贝母素乙
	平均含量(mg/粒)	平均含量(mg/粒)	RSD(%)	RSD(%)
040517	0.6716	1.6025	1.2	1.3
040518	0.6843	1.8239	2.2	1.3
040519	0.6770	1.6744	1.7	1.5

### 3 讨论

**3.1 供试品溶液的制备方法对回流提取的时间进行了考察**, 分别考察了回流 30, 60, 90, 120 min, 结果表明回流 60 min 贝母素甲和贝母素乙基本提取完全。

**3.2 皖贝止咳胶囊标准中** 记载了皖贝总生物碱(紫外分光光度法)和贝母素甲(薄层扫描法)的含量测

**2.7 精密度试验** 取同一样品溶液, 重复进样 6 次, 以峰面积计算, 贝母素甲、贝母素乙日内精密度分别为 1.58%, 1.04%。

**2.8 重复性试验** 依法取同一批样品, 按样品测定方法项下, 进行 5 次平行试验, 结果表明本法重复性较好, 贝母素甲(0.6716 mg/粒)和贝母素乙(1.6025 mg/粒)的 RSD 分别为 1.2%, 1.3%。

**2.9 加样回收率试验** 按样品测定方法项下, 精密称取已知含量的样品, 分别加入一定量的贝母素甲和贝母素乙对照品, 按上述色谱条件测定, 计算回收率, 结果表明本法具有良好的准确性, 结果见表 1。

定, 由于薄层扫描法测定贝母素甲的含量, 不仅方法繁琐, 而且准确性较差, 因此很有必要提高其含量测定标准, 贝母素甲和贝母素乙的高效液相色谱测定方法已有报道, 因此在参考文献的基础上采用高效液相色谱法对皖贝止咳胶囊中的贝母素甲和贝母素乙进行测定<sup>[1-3]</sup>, 经方法学研究表明本法简便、准确、重复性好, 可更好地控制该药的质量, 为该药标准的提高提供依据。并可为含有贝母素甲和贝母素乙的药材和制剂的质量控制提供依据。

### [参考文献]

- [1] 李成网, 李清华. 薄层扫描法测定皖贝精胶囊贝母素甲的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2001, 7(3): 21.
- [2] 姜艳, 李萍. HPLC-ELSD 测定浙贝母中贝母素甲、贝母素乙的含量[J]. 中国药学杂志, 2005, 40(16): 1257.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005: 205.