

高效液相色谱法测定消炎利胆片中 脱水穿心莲内酯的含量

张国民^{1*}, 齐赤虹², 杨工昶², 李志军³

(1. 河南省开封市食品药品检验所, 河南 开封 475002; 2. 河南省医药学校, 河南 开封 475001;
3. 河南大学药学院, 河南 开封 475004)

[摘要] 目的: 建立高效液相色谱法测定消炎利胆片中脱水穿心莲内酯含量的方法。方法: 采用 Hypersil BDS C₁₈, (4.6 mm × 250 mm, 5 μm, Thermo Quest SN: 3-18541) 色谱柱; 流动相: 为甲醇-水(55: 45); 检测波长为 254 nm; 流速为 1.0 mL·min⁻¹。结果: 脱水穿心莲内酯在(37~ 558) μg·mL⁻¹ 范围内呈良好的线性关系($r = 0.999\ 99$, $n = 5$), 平均回收率为 99.79% (RSD = 2.23%, $n = 5$)。结论: 本法简单可行, 准确度高, 重复性好, 回收率高, 能有效控制利胆消炎片的质量。

[关键词] 消炎利胆片; 脱水穿心莲内酯; 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(2008)03-0018-02

消炎利胆片是由穿心莲、溪黄草、苦木组成, 具有清热, 祛湿, 利胆的功效, 用于急性胆囊炎, 胆道炎的治疗。处方中穿心莲具有清热解毒、凉血消肿的功效, 根据参考文献和药典证明高效液相法测定脱水穿心莲内酯含量方法稳定, 供试品溶液的制备方法操作简单, 可使原标准的含量控制方法有进一步的提高, 因此我们采用反-相高效液相色谱法测定消炎利胆片中脱水穿心莲内酯的含量。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Agilent1100 型高效液相色谱仪(VWD 检测器, 四元泵, 在线脱气机, 自动进样器); MILLIPORE Simplicity 超纯水器; 超声波清洗器(型号: SK5200H, 上海科导超声仪器有限公司)。

1.2 试剂 甲醇(色谱纯, 批号: 031123, Fisher), 水为超纯水其余试剂均为分析纯。脱水穿心莲内酯(中国药品生物制品检定所, 供含量测定用, 批号: 0854-200204)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Hypersil BDS C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm, ThermoQuest), 甲醇-水(55: 45)为流动相, 检测波长 254 nm, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 理论板数按脱水穿心莲内酯峰计算应不低于 2 000。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取穿心莲内酯对照品 5.22 mg, 置 25 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释到刻度。

2.3 供试品溶液的制备 取本品 30 片, 除去包衣, 研细, 取约 1.5 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 40% 甲醇 25 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理(功率 250 W, 频率 33 kHz) 45 min, 放冷, 再称定重量, 用 40% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 10 mL, 置中性氧化铝柱(200~ 300 目, 5 g, 内径 1.5 cm)上, 用甲醇 15 mL 洗脱, 收集洗脱液, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 干扰试验 按照处方制成(缺穿心莲)的样品, 再按 2.3 项下制备阴性溶液, 以上述色谱条件测定。结果阴性溶液在脱水穿心莲内酯保留时间处无色谱峰出现。

2.5 线性关系考察 精密称取脱水穿心莲内酯对照品 18.61 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇超声溶解并稀释至刻度, 摇匀, 分别精密量取 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 7.5 mL, 各置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 分别精密吸取上述不同浓度的对照品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 按色谱条件测定, 记录峰面积。以峰面积积分为纵坐标(Y), 脱水穿心莲内酯浓度(μg·mL⁻¹)为横坐标(X), 绘制标准曲线, 计算得回归方程: $Y = -0.103 + 0.056 \times X$ ($n = 5$, $r = 0.999\ 99$)。结果表明脱水穿心莲内酯在(37~ 558)

[收稿日期] 2007-08-13

[通讯作者] * 张国民, Tel: (0378) 2916521

$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内呈良好的线性关系。

2.6 精密度试验 取线性关系项下的对照品溶液, 连续进样 5 次, 每次 10 μL , 按照色谱条件测定, 记录峰面积, 计算得 $\text{RSD}\% = 0.1\%$, 试验结果表明, 该方法精密度良好。

2.7 稳定性试验 取同供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 6, 8 h 按色谱条件测定, 记录峰面积, 计算峰面积的 $\text{RSD}\% = 0.96\%$, 结果表明, 供试品溶液在 8 h 内基本稳定。

2.8 重复性试验 分别称取同 1 批号样品约 1.5 g, 6 份, 按照供试品溶液的制备方法制备供试品溶液, 在上述确定的色谱条件下, 测定脱水穿心莲内酯的含量, 结果表明脱水穿心莲内酯的平均含量是 $7.195 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, $\text{RSD}\% = 1.39\%$ 。结果表明该方法重复性良好。

2.9 回收率试验 采取加样回收法(按 1:1 加入), 取已知含量的同 1 批号样品(批号: 040201) 约 0.75 g, 5 份, 精密称定, 分别精密加入脱水穿心莲内酯对照品, 按供试品溶液制备方法 & 色谱条件测定, 按以下公式计算回收率, 结果见表 1。

表 1 脱水穿心莲内酯回收率试验结果

| 称样量 (g) | 样中含量 (mg) | 加入量 (mg) | 测定总量 (mg) | 回收率 (%) | 平均值 回收率(%) | RSD (%) |
|------------|--------------|-------------|--------------|------------|---------------|------------|
| 0.758 | 5.45 | 5.33 | 10.9 | 102.18 | | |
| 0.759 | 5.46 | 5.24 | 10.64 | 98.84 | | |
| 0.757 | 5.45 | 5.25 | 10.75 | 101.02 | 99.79 | 2.23 |
| 0.756 | 5.44 | 5.32 | 10.57 | 96.44 | | |
| 0.758 | 5.45 | 5.28 | 10.76 | 100.50 | | |

试验结果表明, 脱水穿心莲内酯的加样回收率在 95% ~ 105% 之间, 加样回收良好。

2.10 样品测定 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL , 注入液相色谱仪, 按照外标法计算供试品溶液中脱水穿心莲内酯的含量, 测定结果分别为 1.426, 1.445, 1.361, 1.361, 1.365, 1.367, 1.399, 1.353, 1.369, 1.355(mg/片)。

3 讨论

3.1 测定方法的选择 按照消炎利胆片原标准^[1]项下的供试品溶液的制备方法制备供试品溶液, 依照紫外分光光度法, 进行总内酯含量测定, 试验结果见表 2。

表 2 测定方法的选择

| 次数 | 称样量(g) | 吸光度值 | 平均吸光度值 | RSD(%) |
|----|---------|---------|----------|--------|
| 1 | 0.811 4 | 0.053 8 | | |
| 2 | 0.800 7 | 0.057 7 | | |
| 3 | 0.873 2 | 0.059 6 | 0.0557 7 | 5.96 |
| 4 | 0.836 1 | 0.050 2 | | |
| 5 | 0.836 1 | 0.056 2 | | |
| 6 | 0.886 4 | 0.057 1 | | |

试验结果表明, 利用紫外-可见分光光度法测定总内酯[含量测定]项下的供试品溶液的制备方法所制得的供试品溶液, 其吸光度值 < 0.1, 不符合中国药典(0.3 < Abs < 0.7), 且该试验的 $\text{RSD}\% > 3\%$ 。由于紫外分光光度法测定本品过程中受显色剂的显色时间影响, 导致误差增大, 不宜作为本品的含量测定方法。

3.2 供试品溶液制备考察 取本品粉末 1.5 g, 2 份, 分别加入 40% 甲醇 25 mL, 称定重量, 分别超声和回流提取 45 min, 放冷, 再称定重量, 用 40% 甲醇补足失重, 滤过, 精密量取续滤液 10 mL, 置中性氧化铝柱(200~ 300 目, 5 g, 内径 1.5 cm) 上, 用甲醇 15 mL 洗脱, 收集洗脱液, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀。即得。结果表明超声提取率较好。

精密称定置具塞锥形瓶中, 分别精密加入 40% 甲醇、70% 甲醇、甲醇各 25 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理 45 min. 操作同上。结果表明 40% 甲醇的提取率最好。

精密加入 40% 甲醇 15, 25, 30 mL, 称定重量, 结果表明 25 mL 提取率最好。分别超声处理 30, 45, 60 min, 取出, 放冷, 再称定重量, 结果表明, 45 min 的提取率较好。

3.3 本实验采取高效液相色谱法测定穿心莲中脱水穿心莲内酯的含量, 根据本品的实际情况, 采用过中性氧化铝柱即可使样品中色谱峰达到基线很好分离, 此方法可靠, 简便, 准确, 灵敏, 在原标准基础上有更进一步的提高。

[参考文献]

[1] 中华人民共和国卫生部. 中华人民共和国卫生部药品标准[S]. WS3-B-2023-95. 156-157.