

高效液相法测定消炎止咳片中脱水穿心莲内酯的含量

赵晓昂^{1*}, 沈欣²

(1. 北京中医药大学中药学院 亚宝中药研究中心, 北京 100102;
2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 建立了消炎止咳片中脱水穿心莲内酯含量 HPLC 的测定方法。方法: 色谱柱为 Apollo C₁₈ 色谱柱; 流动相为甲醇-水 (65: 35); 流速: 1 mL/min; 检测波长为 253 nm, 柱温为室温。结果: 脱水穿心莲内酯在 1.038~53.4 μg/mL 范围内线性关系良好, 平均回收率为 99.91%, RSD% 为 1.31%。结论: 该方法简便、灵敏、准确, 可作为该制剂的定量分析方法。

[关键词] 消炎止咳片; 脱水穿心莲内酯; 高效液相色谱法; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2006)07-0014-02

消炎止咳片是由胡颓子叶, 穿心莲, 桔梗, 太子参, 百部, 麻黄, 南沙参等 9 味中药提取加工制成的片剂。具有消炎, 镇咳, 化痰, 定喘的功效。用于咳嗽痰多, 胸满气逆, 气管炎。该产品现行标准(中华人民共和国卫生部药品标准 WS_{3-B-1007}) 未收载含量测定方法。本文建立了消炎止咳片中脱水穿心莲内酯含量测定的反相高效液相色谱法, 该法具有分离效果好、灵敏、准确等优点, 可用于该产品的质量

1 仪器与试剂

1.1 仪器 LC-10AT 型高效液相色谱仪(日本岛津), SPD-10AT 型紫外-可见检测器(日本岛津), TL9900 色谱工作站(北京泰利化电子有限公司)。

1.2 对照品 脱水穿心莲内酯(中国药品生物制品检定所, 批号: 110854-200305), 消炎止咳片(广东药学院附属制药厂, 批号: 050305, 050308, 050311, 050412, 050510, 050426)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Apollo C₁₈ 柱(250 × 4.6 mm, 5 μm, Alltech); 流动相: 甲醇-水 (65: 35), 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 253 nm; 柱温: 室温。在上述色谱条件下, 脱水穿心莲内酯和样品中其他组分可基线分离, 脱水穿心莲内酯与其相邻色谱峰的分度大于 1.5;

理论板数以脱水穿心莲内酯峰计算, 应不低于 4000; 脱水穿心莲内酯峰的拖尾因子为 1.01, 保留时间约为 10.6 min; 阴性样品不干扰样品测定。见图 1~3。

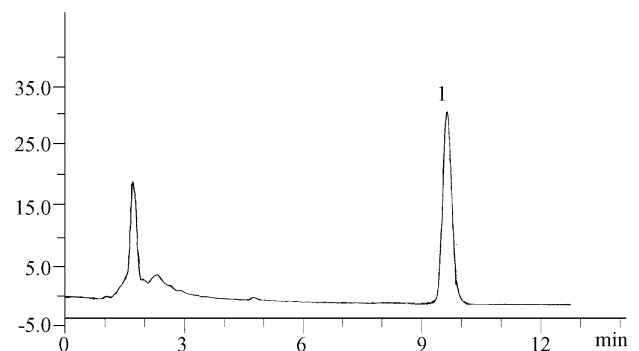


图 1 脱水穿心莲内酯对照品色谱图

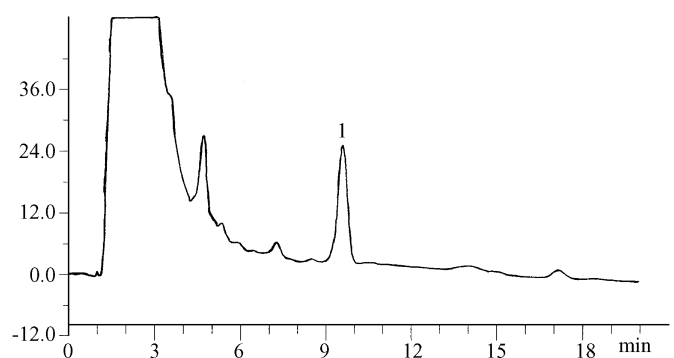


图 2 消炎止咳片样品色谱图

2.2 供试品溶液 取本品 20 片, 除去糖衣, 精密称定, 研细, 取 1g, 精密称定, 置圆底烧瓶中, 精密加入甲醇 20 mL, 称定重量, 加热回流 1h, 放冷, 再称定重量, 加甲醇补足减失的重量。滤过, 取续滤液, 即得。

2.3 对照品溶液 取脱水穿心莲内酯对照品 10 mg, 精密称定, 于 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 再精密量取 1 mL 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇

[收稿日期] 2006-01-19

[通讯作者] 赵晓昂, Tel: (010) 84738619; E-mail: zhuxiaoang@sina.com

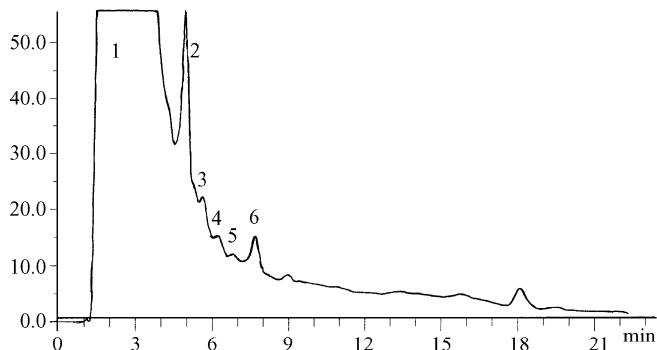


图3 阴性样品色谱图

稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 线性关系考察 取脱水穿心莲内酯对照品 10mg, 精密称定, 于 100mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为母液, 分别精密量取母液 1mL 于 100, 25, 10, 5mL 量瓶中, 分别加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为 1, 2, 3, 4 号供试液; 另再精密量取母液 5mL 于 10mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为 5 号供试液。分别加甲醇稀释至刻度, 摇匀。分别精密量取上述溶液各 20 μ L, 进样测定, 每个浓度测定 3 次。以峰面积对浓度 (C (μ g/mL)) 进行线性回归, 得回归方程为: $Y = 1 \times 10^6 X - 116586$, $r = 0.9999$ 。脱水穿心莲内酯在 1.038~ 53.4 μ g/mL 范围内线性关系良好。

2.5 精密度 取对照品溶液, 精密量取 20 μ L, 重复测定 6 次, 求得脱水穿心莲内酯峰面积的相对标准偏差为 0.29%, 表明该法精密度较好。

2.6 稳定性试验 取同一批号的供试品溶液, 分别在 0, 2, 4, 6, 8 和 12h 进样做色谱分析, 记录色谱图, 结果峰面积的 RSD 为 1.94%。说明供试品溶液在 12h 内稳定。

2.7 重复性试验 取同一批号样品 6 份, 按“2.2”

项下方法制得供试品溶液, 测定, RSD 为 0.94%, 表明该法重复性较好。**2.8 加样回收率试验** 精密称取已知含量的同一批样品 20 片, 除去糖衣, 研细, 精密称取粉末 0.5g, 共 5 份, 加入对照品适量, 按“2.2”项下制成供试品溶液, 各取 20 μ L 进样, 记录色谱图, 计算回收率, 得脱水穿心莲内酯的平均回收率分别为 99.91%, RSD 为 1.31%。结果见表 1。

表1 回收率试验结果表

编号	取样量	样品中量	加入量	测出量(mg, %)	回收率
1	509.79	100.51	106.80	207.04	99.75
2	522.25	102.97	106.80	208.31	98.64
3	499.08	98.40	106.80	206.80	101.5
4	497.59	98.11	106.80	203.41	98.60
5	524.19	103.35	106.80	211.31	101.1

2.9 样品测定 取消炎止咳片 6 批样品, 按上述方法分别测定, 按外标法以峰面积计算样品中脱水穿心莲内酯的含量, 结果分别为 69.62, 69.53, 63.70, 58.29, 60.18 μ g/片。

3 讨论

检测波长的选择 取脱水穿心莲内酯适量, 加甲醇溶解并稀释制成每 mL 含脱水穿心莲内酯 10 μ g 的溶液, 照紫外分光光度法在 200~ 400nm 做紫外扫描, 脱水穿心莲内酯甲醇溶液中在 208, 253nm 处有最大吸收, 因而选择 253nm 作为检测波长。

供试品溶液的制备 实验中选用超声提取及回流提取方法进行提取方法比较, 结果显示回流 1h 提取所得含量高于超声 0.5h 提取所得含量, 因此选用回流方法。

本法分离效果好、灵敏、准确, 可用于该产品的内在质量控制。