

反相 HPLC 法测定复方片仔癀含片中肿节风的异嗪皮啶含量

林小燕

(福建省漳州片仔癀药业股份有限公司, 福建 漳州 363000)

摘要: 采用反相 HPLC 法测定复方片仔癀含片中臣药肿节风中异嗪皮啶的含量, 回归方程为: $Y = 28.0434X + 2.09948$; 相关系数为 0.99997; 精密性: RSD 为 0.66%, 日间重复性: RSD 为 2.90%; 回收率为 100.6%, RSD 为 0.71%。

关键词: 复方片仔癀含片; 肿节风; HPLC; 异嗪皮啶

中图分类号: R284.2 **文献标识码:** B **文章编号:** 1005-9903(2002)02-0007-02

复方片仔癀含片由君药蟛蜞菊和臣药肿节风等组成, 为治疗急、慢性咽喉炎的常用药。方中肿节风, 为金粟兰科植物草珊瑚 *Sarcandra glabra* (Thunb.) Nakai 的干燥全草, 异嗪皮啶为其抗菌消炎的主要成分, 本文以异嗪皮啶为指标, 采用反相 HPLC 法测定肿节风中异嗪皮啶的含量, 建立专属性含量测定方法, 使产品质量更加稳定可控。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 系列高效液相色谱仪, DAD 检测器 (二极管阵列检测器), Ver 08.01-Chemstation 色谱工作站 (美国 Agilent 公司); 色谱柱: Nova-Pak C18 柱 (250 × 4.6mm, 4 μ m) (大连依特利科学仪器有限公司); 异嗪皮啶 (中国药品生物制品检定所); 片仔癀 (漳州片仔癀药业股份有限公司); 液相用的甲醇和乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

2 色谱条件

色谱柱 Nova-Pak C18 柱 (250 × 4.6mm, 4 μ m), 流动相: 乙腈-0.1 磷酸溶液 (15: 85) 检测波长 344nm, 理

论塔板数按异嗪皮啶计算应不得低于 3000。

3 对照品与供试品溶液的制备

3.1 对照品储备溶液的制备 精密称取五氧化二磷干燥至恒重的异嗪皮啶对照品 12.9mg, 加甲醇溶解并稀释至 100ml, 精密吸取 1ml 至 10ml 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 即得对照品液 1。

精密称取五氧化二磷干燥至恒重的异嗪皮啶对照品 19.5mg, 加甲醇溶液并稀释至 100ml, 精密吸取 4ml 至 10ml 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 即得对照品液 2。

3.2 供试品溶液的制备 取本品 20 片, 研细, 过 4 号筛, 精密称定, 加水约 25ml, 超声处理 10min, 转移至分液漏斗中, 再用 25ml 水再次洗涤容器。用氯仿振荡提取 5 次, 每次 20ml, 合并氯仿提取液, 蒸干, 残渣用甲醇使溶解, 转移至 10ml 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 静置, 取上清液, 过微孔滤膜 (0.45 μ m), 即得。

4 系统适用性实验

按该色谱条件对样品和对照品峰的理论塔板数, 分离度, 拖尾因子, 峰宽等参数进行了测试比较,

结果见表 1。采用 DAD 检测器结果表明样品和对照品光谱图完全一致,在波长 344nm 处有最大吸收;通过样品和对照品峰的 5 点采集光谱图表明,样品和对照品峰纯度佳。

表 1 系统适用性实验测试结果

	理论塔板数	拖尾因子	分离度	峰度
对照品	19825	0.95	—	0.22
样品	19868	0.93	1.32	0.22

4 空白试验

按处方项下取各味药(除肿节风外)模拟工艺制备成阴性对照品,按本文方法操作,测试结果表明,在与对照品相应保留时间,无色谱峰出现。阴性无干扰。

5 线性关系考察

精密吸取对照品液 1,自动进样器精密进样 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 μ l 至液相色谱仪中分析,以峰面积为纵坐标,进样量(μ g)为横坐标,绘制标准曲线。得回归方程: $Y = 28.043X + 2.09948$, $r = 0.99997$ 。结果样品在 0.0129~0.0903 μ g 范围呈良好的线性关系。

6 精密度试验

精密量取供试品溶液 10 μ l 重复进样 6 次,测定异嗪皮啶峰面积,计算成异嗪皮啶平均含量为 36.3753,结果相对标准偏差,0.66%。

7 重复性试验

取样品(批号 20005001),日内重复提取 5 次测定异嗪皮啶含量,日内 RSD 为 2.94%,隔日提取测定共 3 次,测定其含量平均值为 38.5 μ g/g, RSD 为 3.46%。

8 回收率试验

精密称取约 5g 的已知含量的样品(批号 2000501,含量为 38.7 μ g/g),精密加入异嗪皮啶对照品甲醇溶液 2 各 2.0, 2.0, 2.4, 2.4, 2.8, 2.8ml(相当于称取样品之异嗪皮啶含量的 80%~120%)。挥干甲醇,按正文方法测定。计算平均回收率为 100.6%, RSD 为 0.71%。

表 2 回收率试验

编号	样品含量 (μ g)	加入量 (μ g)	测得量 (μ g)	回收率 (%)	平均值 (%)
1	194.1	156.0	350.6	100.1	
2	194.5	156.0	353.6	100.9	
3	195.9	187.2	384.7	100.4	100.6
4	194.2	187.2	383.2	100.2	RSD = 0.71
5	194.3	218.4	413.8	100.3	
6	194.8	218.4	421.4	102.2	

9 样品的测定

异嗪皮啶属香豆素成分,其易溶于氯仿和醋酸乙酯等溶剂,样品的前处理方式分别采用氯仿索氏提取和萃取的方法进行比较,HPLC 色谱图结果显示,索氏提取方法,杂质成分提取较多,萃取的方法杂质相对提取较少,故选定萃取方法,但萃取过程应避免剧烈振摇,以防乳化现象。

表 3 复方片仔癀含片异嗪皮啶含量
测定结果(每片含量=含量 \times 平均片重)

批号	含量 (μ g/g)	平均片重 (g)	每片含量 (μ g/片)	RSD (%)
20005001	38.6	0.5049	19.49	1.92
20005002	36.8	0.5018	18.47	0.88
20005003	37.6	0.5054	19.00	0.35
20005010	39.8	0.4773	18.99	1.45
20005020	40.1	0.4715	18.91	0.48
20005030	40.3	0.4675	18.84	0.68

暂定本品每片含肿节风以异嗪皮啶($C_{11}H_{10}O_5$)计,不得低于 10 μ g。结果表明用 HPLC 法测定肿节风中异嗪皮啶的含量,方法稳定,结果准确,确实可行。

参考文献:

- [1] 王爱琴,谢平,易扬华.肿节风中香豆精类成分的研究[J].中草药,1983,14(6):37.
- [2] 周国平,刘红宇,王汉章,等.肿节风中异嗪皮啶含量的 HPLC 法测定[J].中国中药杂志,1999,24(8):481-482.
- [3] 中华人民共和国药典[S].一部.北京:化学工业出版社,2000.179-180.