

RP-HPLC 法测定老年咳喘片中补骨脂素和异补骨脂素的含量

章建明¹ 莫文电² 谭忠谋²

(1 广西河池市人民医院, 广西河池市新建路 91 号, 547000; 2 广西河池药检所)

关键词 老年咳喘片; 补骨脂素; 异补骨脂素

老年咳喘片由黄芪、白术、防风、甘草、黄精、淫羊藿、补骨脂制成, 有滋阴壮阳、扶正固本的功效, 可以提高免疫力, 促进病体康复, 用于老年慢性支气管炎及各种体虚症。补骨脂含香豆精类、黄酮类、单萜酚类以及挥发油、皂苷、多糖、类脂等成分。补骨脂素和异补骨脂素为香豆精类, 在补骨脂中含量较高, 故选取其作为定量指标控制本品的质量, 采用高效液相色谱法测定其含量。

1 仪器、试剂与样品

LC-10AT_{VP} 高效液相色谱仪; SPD-10AVP 紫外检测器; 威玛龙色谱数据工作站。

补骨脂素、异补骨脂素对照品(中国药品生物制品检定所, 供含量测定用); 老年咳喘片及缺补骨脂的阴性对照样品由某药厂提供; 甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适用性试验 色谱柱: 十八烷基硅烷键合硅胶柱(Kromasil C18 5 μ m; 250mm $\times$ 4.6mm), 流动相: 甲醇-水(55:45); 流速: 1.0mL/min; 检测波长: 246nm; 柱温: 30 $^{\circ}$ C; 进样量: 10 μ L; 理论板数按补骨脂素、异补骨脂素峰计算应不少于 4000, 分离度应不小于 1.5。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取补骨脂素、异补骨脂素对照品适量, 加甲醇制成每 1mL 各含 20 μ g 的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备 取本品 10 片, 除去包衣, 精密称定, 研细, 取粉末约 2g, 精密称定, 置具塞锥形瓶

中, 精密加入甲醇 20mL, 密塞, 称定重量, 超声处理(功率 160W, 频率 50kHz)40min, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 静置, 取上清液滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 阴性对照溶液的制备 依照“2.3 项”下方法制备阴性对照溶液。

2.5 空白试验 精密吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各 10 μ L, 分别注入液相色谱仪, 在“2.1”色谱条件下测定, 在老年咳喘片供试品色谱图中, 在与对照品色谱相应位置(补骨脂素 t_R = 12.1min, 异补骨脂素 t_R = 14.5min)上, 确认了补骨脂素和异补骨脂素的吸收峰, 而阴性对照溶液无补骨脂素和异补骨脂素的吸收峰, 故认为无干扰。

2.6 线性关系考察试验 取补骨脂素对照品约 9.4mg, 异补骨脂素对照品约 9.2mg, 精密称定, 置同一 100mL 量瓶中, 加甲醇使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 备用。精密吸取以上对照品溶液 0.5、1、2、5、10mL, 分别置 10mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 精密吸取溶液各 10 μ L, 注入液相色谱仪进行测定。以对照品进样量(mg)为横坐标, 峰面积积分值为纵坐标绘制标准曲线。结果表明补骨脂素在 0.0470~0.9400mg 范围内时, 进样量与峰面积积分值呈良好的线性关系; 异补骨脂素在 0.0460~0.9200mg 范围内时, 异补骨脂素进样量与峰面积积分值呈良好的线性关系。回归方程为:

补骨脂素: $Y = 7.1211 \times 10^6 X + 5.1969 \times 10^3$ ($r = 0.9999$)

异补骨脂素: $Y = 7.1589 \times 10^6 X + 5.1495 \times 10^3$ ($r = 0.9999$)

4 讨论

有关青参胶囊中青藤碱含量测定方法的文献报道较少, 本实验建立了青藤碱含量测定的高效液相色谱法, 并对青藤碱样品的提取方法进行了考察, 结果发现经超声提取 30min 后, 青藤碱基本完全提取出来。同时, 样品中青藤碱峰与杂质峰完全分离, 分析时间短,

结果准确, 重现性良好, 可作为青参胶囊的质量控制的依据。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典, 2005 年版一部. 北京: 化学工业出版社, 2005.

(2009-12-02 收稿) □

2.7 精密性试验 取一批样品,按“2.3项”方法制备供试品溶液1份,按“2.1项”下色谱条件,连续测定5次,计算含量。结果表明5次测定结果的平均值为0.2503mg/g, RSD为0.45% (n=5)。试验表明,本法的精密性良好。

2.8 重复性试验 取同一批样品(批号:060406),按“2.3项”方法制备供试品溶液5份,再按“2.1项”下色谱条件平行测定,5份测定结果的平均值为25.25mg/片, RSD为0.31% (n=5)。结果表明,本法的重复性良好。

2.9 耐用性试验 取“2.7项”下供试品溶液用两根不同厂家同类型色谱柱分别以流速为0.8mL/min、1.0mL/min、1.2mL/min进行测定。5份测定结果的平均值为0.2658mg/g, RSD为0.44% (n=5)。结果表明,本法的耐用性良好。

2.10 稳定性试验 对同一份供试品溶液(批号:051006),分别在0、1、2、4、6、12h测定次,共测定6次,结果6次测定结果平均含量为0.2422mg/g, RSD为1.65% (n=6)。试验表明,在12h内,供试品溶液稳定。

2.11 回收率试验 取补骨脂素6.0mg,补骨脂素5.8mg,精密称定,置50mL量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为加样回收率试验用对照品溶液(每1mL含补骨脂素对照品0.1200mg/mL,含异补骨脂素0.1160mg/mL,含补骨脂素、异补骨脂素总量0.2360mg/mL)。精密称取重复性试验项下的样品(含补骨脂素和异补骨脂素总量为0.2506mg/mL)1.0g,共取5份样,分别精密加入上述对照品溶液1mL,再加甲醇19mL,按“2.3项”制备供试品溶液,测定,计算回收率。结果平均回收率为98.88%, RSD为1.66% (n=5),结果表明回收率良好。见表1。

表1 回收率试验结果(n=5)

序号	取样量(g)	样品含量(mg)	加入对照品量(mg)	测得总量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	1.0538	0.2641	0.2360	0.4925	98.48	98.88%	1.66%
2	0.9876	0.2475	0.2360	0.4234	96.32		
3	1.0886	0.2728	0.2360	0.5119	100.61		
4	1.1012	0.2760	0.2360	0.5067	98.98		
5	1.0965	0.2748	0.2360	0.5110	100.04		

2.12 样品测定及含量限度的拟订 按正文拟订的含量测定方法,测定了本品10批样品中的补骨脂素、异补骨脂素含量,结果表2。10批样品中批号为060401含量最高,为80.05μg/片;批号为060304含量最低,为57.62μg/片;10批样品平均含量为73.44μg/片。在拟订含量限度时,根据10批样品中含量测定结果的

平均值,适当降低,故拟订本品每片含补骨脂以补骨脂素(C₁₁H₆O₃)和异补骨脂素(C₁₁H₆O₃)计,总量不得少于60μg。

表2 样品中补骨脂素和异补骨脂素含量测定结果(n=10)

批号	测定结果(μg/片)	批号	测定结果(mg/片)
060301	63.60	060402	77.10
060302	60.39	060403	79.03
060303	70.66	060404	77.36
060304	58.23	060405	79.77
060401	77.04	060406	76.89

3 讨论

3.1 色谱柱的选择 参照《中国药典》2005年版一部中“补骨脂”【含量测定】项^[1]所使用的色谱柱填料,采用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂的色谱柱,经试验,达到分离测定的目的。

3.2 流动相的选择 参照《中国药典》2005年版一部中“补骨脂”【含量测定】项^[1]所使用的流动相,采用甲醇-水(55:45)为流动相进行分析,达到分离测定的目的,所以选择甲醇-水(55:45)为流动相。

3.3 提取溶剂及条件的选择 由于补骨脂素、异补骨脂素易溶于甲醇、乙醇等溶剂,参照《中国药典》2005年版一部中“补骨脂”【含量测定】项^[1]供试品制备提取溶剂及提取方法,所以用甲醇作为溶剂超声处理,可达到完全提取的目的。

3.4 提取时间的选择 经反复试验,超声提取40min已能够提取完全。

3.5 测定波长的选择 取补骨脂素、异补骨脂素对照品适量,分别加流动相使溶解,在紫外分光光度计上扫描,结果补骨脂素对照品在246.2nm波长处有最大吸收,异补骨脂素对照品在246.4nm波长处有最大吸收,故选择246nm为测定波长。

参考文献

[1] 中国药典[S]. 一部, 2005: 129-130.

(2010-03-16 收稿) □

《世界中医药》投稿方式

方式一:信件投稿。将稿件的打印稿或手写稿通过信件寄送,投稿地址:北京市朝阳区小营路19号财富嘉园A座303室,世界中医药编辑部(100101),请注明“投稿”。

方式二:电子邮件投稿。将稿件的word文档,通过电子邮件发送,投稿邮箱:wfcms2006zss@163.com。