

高效液相色谱法测定消毒饮优化方胶囊中的异嗪皮啶

王绍龙¹, 付书婕¹, 巫玲玲¹, 农慧亮¹, 蒋伟哲^{1*}, 吴洪文^{2*}

1. 广西医科大学药学院, 广西 南宁 530021

2. 柳州市工人医院, 广西 柳州 545005

摘要: 目的 建立消毒饮优化方胶囊中异嗪皮啶的 HPLC 测定方法。方法 采用 phenomenex Synergi 4 u Fusion-RP 80A 柱 (250 mm×4.60 mm, 4 μm), 流动相为乙腈-1%磷酸 (20:80), 体积流量为 1.0 mL/min, 柱温为 40 °C, 检测波长为 342 nm。结果 异嗪皮啶进样量在 0.100 0~1.000 0 μg 与峰面积呈良好的线性关系 ($r=0.999\ 9$), 平均回收率为 95.04%, RSD=1.84% ($n=6$)。结论 该方法操作简便、准确、专属性强、重复性好, 可用于消毒饮优化方胶囊中异嗪皮啶的含量测定。

关键词: 高效液相色谱法; 消毒饮优化方胶囊; 异嗪皮啶; 含量测定

中图分类号: R927.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2014)01-0058-03

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2014.01.013

Determination of isofraxidin in Optimizing Xiaoduyin Capsules by HPLC

WANG Shao-long¹, FU Shu-jie¹, WU Ling-ling¹, NONG Hui-liang¹, JIANG Wei-zhe¹, WU Hong-wen²

1. Pharmaceutical College, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China

2. Liuzhou Worker's Hospital, Liuzhou 545005, China

Abstract: Objective To establish a method for the content determination of isofraxidin in Optimizing Xiaoduyin Capsules. **Methods** The HPLC was performed on the phenomenex Synergi 4 u Fusion-RP 80A column (250 mm × 4.60 mm, 4 μm) with the mobile phase of acetonitrile-1% phosphoric acid (20:80); The flow rate was 1.0 mL/min, the column temperature was 40 °C, and the detection wavelength 342 nm. **Results** The sample size of isofraxidin during the range of 0.100 0—1.000 0 μg showed a good linear relation with the peak area ($r = 0.999\ 9$), and the average recovery rate was 95.04%, with RSD of 1.84% ($n = 6$). **Conclusion** The method is simple, reliable, and specific, with good reproducibility, and could be used to determine the content of isofraxid in Optimizing Xiaoduyin Capsules.

Key words: HPLC; Optimizing Xiaoduyin Capsules; isofraxidin; content determination

消毒饮优化方胶囊由肿节风、山银花、野菊花、穿心莲 4 味中药组成, 是根据五味消毒饮^[1]与广西壮药^[2]相结合筛选优化而得的组方, 该方已作为医院制剂使用多年, 经临床应用证明该方对急性咽炎、扁桃体炎等上呼吸道感染, 外科的体表化脓性疾病、蜂窝织炎、疮疮等, 妇科的阴道炎、盆腔炎、宫颈炎、乳腺炎等, 生殖泌尿科的尿道炎、前列腺综合症等都有非常好的治疗效果, 且无不良反应。本方中的主药肿节风^[3-4]是广西特色药材, 肿节风制剂大多以香豆素类中的异嗪皮啶、有机酸类中的反丁烯

二酸作为含量测定指标^[5-7]。2010 年版《中国药典》将异嗪皮啶和迷迭香酸作为肿节风的质量控制成分。以异嗪皮啶为指标的含量测定大多应用于药材质控和单方片剂^[8], 目前未见有对消毒饮优化方胶囊中异嗪皮啶含量测定的报道。本实验采用高效液相色谱法作为消毒饮优化方胶囊中异嗪皮啶的含量测定方法, 为该制剂的质量控制提供依据。

1 材料

1.1 仪器

Agilent1260 液相色谱仪, DAD 检测器 (安捷

收稿日期: 2013-09-11

基金项目: 广西科学研究与技术开发计划课题 (桂科攻 11107009-2-4); 广西壮族自治区中医药科技专项课题 (GZYZ1125); 广西教育厅校地校企共建科技创新平台项目 (桂教科研 [2011]9 号); 广西教育厅校地校企共建科技创新平台项目 (桂教科研 [2013]8 号-3)

作者简介: 王绍龙, 药师, 在读硕士研究生, 从事中药及天然药物活性成分研究。Tel: 18778072355 E-mail: 568612929@qq.com

*通信作者 蒋伟哲, 博士, 教授, 博士研究生导师, 从事新药研发。Tel: (0771)5358272 E-mail: jiangweizhe6812@163.com
吴洪文, 硕士, 副主任药师, 从事临床药学研究。Tel: 13707825918 E-mail: wuhongwen5918@163.com

伦公司); Mettler Toledo 电子天平 (梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司); KQ—500DB 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试药

消毒饮优化方胶囊, 由柳州市工人医院提供, 批号 (20110728、20110815、20110906、20111008、20111123、20111218)。异嗪皮啉对照品 (中国食品药品检定研究院, 质量分数 99.5%, 批号 110837-200304); 乙腈为色谱纯; 水为超纯水; 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: phenomenex Synergi 4u Fusion-RP 80A 柱 (250 mm×4.60 mm, 4 μm), 流动相为乙腈-1% 磷酸 (20:80); 检测波长 342 nm; 柱温 40 °C; 体积流量 1.0 mL/min; 进样量 5 μL。理论塔板数按异嗪皮啉计算应不低于 4 000。

2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品溶液的制备 取干燥至恒质量的异嗪皮啉对照品适量, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇使溶解并定容至刻度, 制成含 400 μg/mL 异嗪皮啉的溶液, 即得对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品内容物, 混匀, 取胶囊粉末约 0.4 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 加入甲醇 25 mL, 密塞, 精密称定, 超声处理 0.5 h, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得消毒饮优化方胶囊供试品溶液。

2.3 方法专属性考察

高效液相色谱法进行方法专属性考察。取溶剂甲醇、对照品溶液、供试品溶液, 按上述色谱条件, 进样 5 μL, 记录色谱图, 溶剂无干扰吸收峰出现。表明在上述色谱条件下, 空白溶剂及流动相不干扰本品中异嗪皮啉的含量测定。结果见图 1。

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系考察 分别精密量取异嗪皮啉对照品贮备液 0.5、1、2、3、4、5 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 加无水甲醇配成 20、40、80、120、160、200 μg/mL 系列溶液, 然后按照色谱条件测定峰面积, 以异嗪皮啉的质量浓度为横坐标, 峰面积的积分值为纵坐标绘制标准曲线, 得回归方程 $Y=15.144\ 09X-4.704\ 09$, $r=0.999\ 9$ ($n=6$)。结果表明, 进样量在 0.100 0~1.000 0 μg 与峰面积呈良好线性关系。

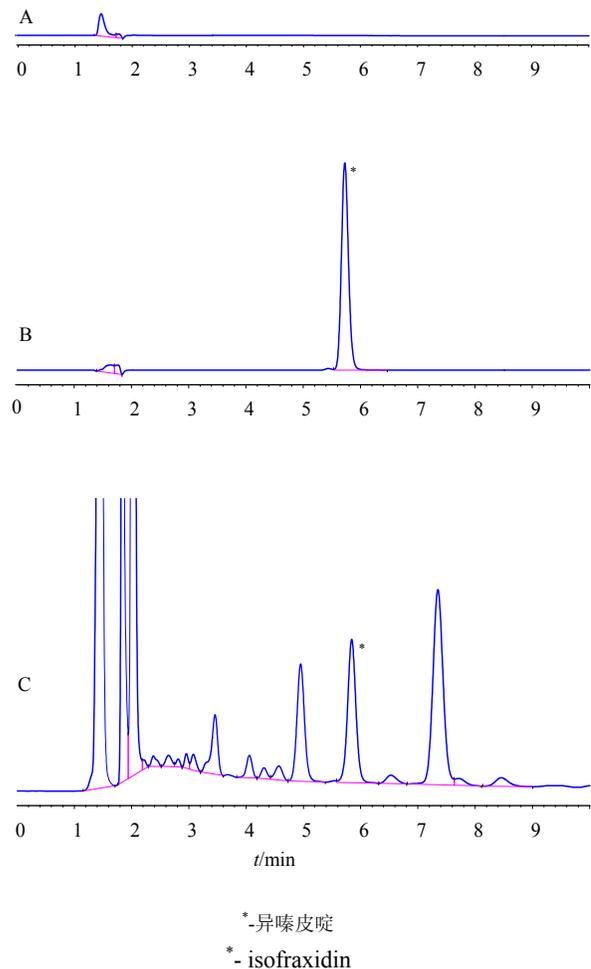


图 1 溶剂 (A)、对照品溶液 (B)、消毒饮优化方胶囊供试品溶液 (C) HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC of solvent (A), reference substance (B), and sample (C)

2.4.2 精密度试验 精密吸取质量浓度为 400 μg/mL 的对照品溶液 5 μL, 连续重复进样 6 次, 测定异嗪皮啉峰面积值, 结果 RSD 值为 1.51%, 表明精密度良好。

2.4.3 稳定性试验 取批号为 20110728 的消毒饮优化方胶囊, 按 2.2.2 项下方法制备溶液, 分别于 0、2、4、8、12、24 h 进样 5 μL, 测定异嗪皮啉峰面积值, 结果 RSD 值为 1.21% ($n=5$), 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4.4 重复性试验 取同一批消毒饮优化方胶囊 (批号为 20110728) 6 份, 分别按照 2.2.2 项下方法制备溶液, 并测定异嗪皮啉, 结果 RSD 值为 2.09%, 表明本法测定的重复性良好。

2.4.5 加样回收试验 取已测定的消毒饮优化方胶囊内容物 (批号 20110728, 含异嗪皮啉 2 mg/g) 0.2

g, 精密称取 6 份, 置具塞锥形瓶中, 分别精密加入异嗪皮啉对照品 (405.68 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 1 mL, 按照以上色谱条件测定异嗪皮啉, 结果本法平均回收率达 95.04%, RSD 值为 1.84%。

2.4.6 样品测定 取 6 批消毒饮优化方胶囊, 按 2.2.2 项下方法制成供试品溶液, 吸取各供试品溶液 5 μL 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件进行测定, 标准曲线法计算样品中异嗪皮啉含量。结果见表 1。

表 1 6 批样品中异嗪皮啉的含量测定结果 ($n = 6$)
Table 1 Determination of isofraxidin in six batches of samples ($n = 6$)

样品批号	异嗪皮啉/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	RSD/%
20110728	2.00	2.09
20110815	1.95	1.70
20110906	1.95	2.60
20111008	1.96	2.40
20111123	1.90	0.80
20111218	1.86	0.09

3 讨论

消毒饮优化方胶囊处方是在传统验方的经验基础上加以改良优化而成, 主药肿节风功擅抗菌消炎、祛风通络、活血散结, 用于肺炎、阑尾炎、风湿痹痛、跌扑损伤等。山银花、穿心莲、野菊花功擅清热解毒凉血散结^[9], 山银花和穿心莲入肺胃经, 可解中上焦之热毒, 野菊花入肝经, 专清肝胆之火, 三药相配, 善清气分之热毒; 肿节风能入三焦, 善除三焦之火, 四药合用气血同清, 三焦同治, 兼能开三焦之热结, 利湿、凉血、消肿。

本方中的肿节风是广西特色药材, 肿节风制剂大多以香豆素类中的异嗪皮啉、有机酸类中的反丁烯二酸作为含量测定指标。2010 年版《中国药典》将异嗪皮啉和迷迭香酸作为肿节风的质量控制成分。本课题组采用高效液相色谱法作为消毒饮优化方胶囊中异嗪皮啉的含量测定方法, 结果表明此法简便易行, 精密度好, 可为消毒饮优化方胶囊质量

标准的建立提供依据。

本实验参考了 2010 版《中国药典》中肿节风药材中含量测定^[10]项下的柱温为常温, 进样量为 10 μL 。但直接用该方法测定时, 峰形不佳, 前后有干扰, 分离度和理论塔板数均不符合要求。本实验通过调节柱温、进样量, 可使出峰时间提前, 且分离度、峰形及理论塔板数都能达到要求。实验考察了柱温分别为 25、30、35、40 $^{\circ}\text{C}$ 时, 进样量分别为 5、10 μL 时, 对异嗪皮啉 HPLC 色谱图的影响, 最终得出柱温为 40 $^{\circ}\text{C}$ 、进样量为 5 μL 时条件最佳, 可满足色谱条件的需要。本实验建立的高效液相色谱法测定消毒饮优化方胶囊中异嗪皮啉的含量, 具有分离效果好, 稳定可靠, 重复性好, 精密度高等优点, 为该制剂的质量控制提供了可靠依据。

参考文献

- [1] 王倩. 五味消毒饮临床应用研究 [J]. 中国民康医学, 2012, 24: 2988-2990.
- [2] 钟鸣, 王柏灿. 壮药现代研究现状与发展思考 [J]. 湖北民族学院学报: 医学版, 2006, 23(4): 36-39.
- [3] 潘宇明. 中药肿节风质量控制方法研究 [D]. 暨南大学, 2010.
- [4] 应国清, 陆红娅, 王鸿, 等. 中药肿节风的研究进展 [J]. 上海中医药杂志, 2007, (6): 85-87.
- [5] 覃星柳. 肿节风制剂的研究进展及临床应用 [J]. 华夏医学, 2011, 24(6): 738-741.
- [6] 闵芳, 斯金平, 黄文华, 等. 不同种源肿节风反丁烯二酸和异嗪皮啉含量研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 15: 1849-1853.
- [7] 王砚, 王钢力, 姚令文, 等. 肿节风药材中反丁烯二酸和异嗪皮啉的含量测定 [J]. 华西药学杂志, 2005, (1): 60-62.
- [8] 肖小武, 李婷婷, 宁火华, 等. HPLC 测定肿节风片中异嗪皮啉和迷迭香酸的含量 [J]. 中成药, 2010, 07: 1145-1147.
- [9] 杨杏, 甄龙龙, 高永举, 等. “耗血动血”及“凉血散血”理论在皮肤病中的应用 [J]. 河南中医学报, 2012, 32(12): 1585-1586.
- [10] 中国药典[S]. 一部. 2010.