

HPLC 法测定清火栀麦胶囊中脱水穿心莲内酯

周国儿¹, 李 彬²

(1. 舟山市人民医院, 浙江 定海 316000; 2. 舟山市药品检验所, 浙江 定海 316000)

清火栀麦胶囊由穿心莲、栀子、麦冬 3 味中药制成的胶囊剂, 具有清热解毒、凉血消肿之功效, 主要用于咽喉肿痛、发热、耳痛、目赤。该制剂收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第 16 册, 但标准中没有定量测定项目。为有效控制该药品的质量, 本实验对方中主药穿心莲中的主要成分脱水穿心莲内酯采用反相高效液相色谱法进行测定。本方法操作简便、准确、重现性好, 可作为清火栀麦胶囊的定量测定方法。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪, VWD 检测器, Agilent 1100 LC 化学工作站; SB 3200 超声波清洗器; 日本岛津 UV-260 分光光度计。

脱水穿心莲内酯对照品(批号 0854-9002, 中国药品生物制品检定所); 甲醇为色谱纯; 水为重蒸水, 其余为分析纯; 清火栀麦胶囊(广西日田药业有限责任公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Hypersil ODS C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相: 甲醇-水(62:38); 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长: 254 nm; 进样量: 10 μL; 柱温为室温。理论板数按脱水穿心莲内酯峰计不得低于 2 000。

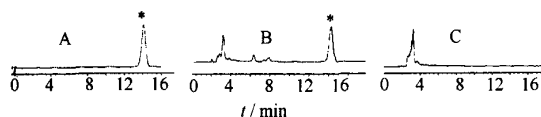
2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备: 精密量取 0.404 0 mg/mL 脱水穿心莲内酯对照品贮备液 2.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 配成质量浓度为 80.80 μg/mL 的溶液, 放置暗处, 作为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备: 取本品内容物约 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 乙醇 50 mL, 浸泡 1 h, 超声 30 min, 滤过, 弃去初滤液, 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 50 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45 μm)滤过, 取续滤液即得。

2.3 空白试验: 按处方比例自制缺穿心莲的阴性对

照, 其中麦冬用水煮, 浓缩后与栀子粉混合, 取约 2 g 依照供试品溶液制备法制得阴性对照溶液。按上述色谱条件吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液, 分别注入色谱仪, 结果阴性对照对脱水穿心莲内酯的测定无干扰(图 1)。



* -脱水穿心莲内酯

* -dehydroandrographolide

图 1 脱水穿心莲内酯对照品(A)、清火栀麦胶囊(B)和阴性对照(C)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of dehydroandrographolide reference substance (A), Qinghuo Zhimai Capsules (B), and negative sample (C)

2.4 线性关系考察: 精密吸取质量浓度为 0.404 0 mg/mL 的脱水穿心莲内酯对照品贮备液 0.25、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 进样测定。以平均峰面积为纵坐标, 对应的质量浓度为横坐标, 绘制标准曲线图, 并求得线性回归方程为 $Y = 25\,518 X - 10.278$, $r = 0.999\,9$ 。结果脱水穿心莲内酯质量浓度为 0.010 1~0.323 2 mg/mL 时与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验: 取脱水穿心莲内酯对照品溶液连续进样 6 次, 测定峰面积, 结果 RSD 为 0.7%。

2.6 稳定性试验: 取供试品溶液在 24 h 内每隔 4 h 进样 1 次, 测定峰面积, 结果脱水穿心莲内酯峰面积的 RSD 为 0.6% ($n=7$), 表明供试品溶液在暗处室温下 24 h 内稳定。

2.7 重现性试验: 取同一批(批号 040403)样品 5 份, 制备供试品溶液, 进样测定, 脱水穿心莲内酯的平均质量分数为 6.529 mg/g, RSD 为 2.1%。

2.8 回收率试验: 采用加样回收法。精密称取清火栀麦胶囊内容物约 0.2 g (含脱水穿心莲内酯约 1.1 mg), 5 份, 分别精密加入脱水穿心莲内酯对照品约

1.1 mg,制备供试品溶液,测定,结果平均回收率为 97.2%,RSD 为 1.1%。

2.9 样品测定:分别吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μ L,按上述色谱条件测定,外标一点法计算脱水穿心莲内酯的质量分数,结果见表 1。

表 1 清火栀麦胶囊中脱水穿心莲内酯的测定结果 ($n=3$)

Table 1 Results of dehydroandrographolide in Qinghuo Zhimai Capsules ($n=3$)

批号	脱水穿心莲内酯/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	RSD/%
040403	6.606 7	0.1
040802	6.296 7	0.4
050413	6.111 3	0.9

3 讨论

3.1 提取溶剂的选择:根据脱水穿心莲内酯的性质,供试品溶液分别采用 50%甲醇、50%乙醇、70%乙醇提取,结果表明,用 70%乙醇提取效果最好。

3.2 提取方式的选择:比较了供试品用 70%乙醇冷浸 1 h 和冷浸 1 h 后再超过 30 min 两种提取方式对测定结果的影响,结果以后者为佳。

3.3 分离纯化方式的选择:笔者曾尝试本品的 70%乙醇提取液直接注入液相色谱仪,但发现溶液颜色较深,杂质峰极多,对色谱柱损坏较大,故对样品进行过中性氧化铝柱处理,效果较好。

3.4 脱水穿心莲内酯在光的作用下易水解,故供试品溶液和对照品溶液宜放置暗处。

玄通胶囊中哈巴俄苷的 HPLC 测定

耿莹莹¹, 阙慧卿², 师 怡*, 许 晖¹, 邓思珊², 林 媛^{2**}

(1. 福建省药品检验所,福建 福州 350001; 2. 福建省医学科学研究所,福建 福州 350001)

玄通胶囊以玄参为君药,用于热病伤阴、津伤便秘、目赤、咽痛等症,对热病所致的大便稠厚效果显著。哈巴俄苷(harpagoside,又名玄生苷、钩果草苷)为玄参的特征性成分。文献报道哈巴俄苷具有抗慢性炎症、降压、镇痛、解痉、抗乙肝病毒以及免疫促进作用,且其与滋阴功效密切相关。因此本实验对玄通胶囊中哈巴俄苷进行测定,作为玄通胶囊的质量控制方法。

1 仪器与试药

Hewle 77 PACKARD Gevies 1100 型高效液相色谱仪。

甲醇、乙腈为色谱纯,水为纯化水,其余试剂均为分析纯。哈巴俄苷对照品购自中国药品生物制品检定所(批号 111730-200501),玄通胶囊由福建省医学科学研究所研制。

2 方法与结果

2.1 色谱条件^[1,2]:色谱柱:Kromasil C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m);流动相:甲醇-乙腈-1%醋酸水溶液(15:25:60);检测波长:280 nm;体积流量:1 mL/min。色谱图见图 1。

2.2 对照溶液的制备:精密称定哈巴俄苷对照品 4.0 mg,置 100 mL 量瓶中,加 50%甲醇适量溶解,

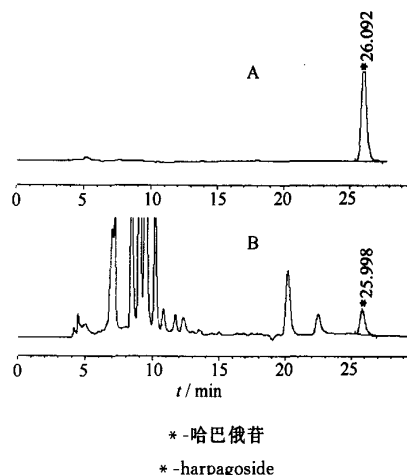


图 1 哈巴俄苷对照品(A)和玄通胶囊(B)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of harpagoside reference substance (A) and Xuantong Capsules (B)

定容,摇匀,用微孔滤膜滤过,作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备:称取玄通胶囊内容物约 10 g,用 80%乙醇水浴加热回流 2 h,共 2 次(乙醇用量第 1 次 150 mL,第 2 次 100 mL)。合并两次提取液,滤过,回收乙醇至干。残渣加蒸馏水适量定容至 100 mL,定量转移至分液漏斗。用醋酸乙酯振摇萃

收稿日期:2006-01-25

* 福建医科大学 06 级研究生

** 通讯作者 林 媛