

HPLC法测定复方玄参止咳胶囊中哈巴俄苷

刘霞,冯玛莉,李培毅,贾力莉,牛艳艳,武玉鹏

(山西省中医药研究院,山西太原 030012)

摘要:目的 建立复方玄参止咳胶囊中哈巴俄苷的测定方法。方法 采用高效液相色谱法, Irregular C₁₈ (250 mm ×4.6 mm, 10 μm); 乙腈-1.0%醋酸 (26:74) 为流动相; 检测波长为 278 nm; 柱温为室温。结果 哈巴俄苷在 0.061~1.076 μg 线性关系良好, $r=0.9999$, 平均加样回收率为 99.6%, RSD 为 2.06%。结论 该方法简便、快速、准确, 为复方中测定哈巴俄苷提供了可靠的方法。

关键词: 复方玄参止咳胶囊; 哈巴俄苷; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)01-0069-02

复方玄参止咳胶囊由玄参、知母、麦冬等 10 余味中药组成, 具有解热润肺、化痰止咳的功效, 主治外感风热引起的咳嗽痰盛, 口干舌燥, 腹满便秘等症。本品以玄参为君药, 其中哈巴俄苷为玄参的有效成分。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, 且与滋阴功效密切相关^[1]。《中国药典》2005 年版玄参药材中哈巴俄苷的测定采用梯度洗脱的 HPLC 法测定, 该方法用于复方玄参止咳胶囊中哈巴俄苷的测定时, 稳定性差, 哈巴俄苷色谱峰分离度、拖尾因子均达不到规定要求。因此本实验采用 HPLC 法对复方玄参止咳胶囊中的哈巴俄苷进行了测定, 采用固定比例的流动相稳定性好, 并经过大孔吸附树脂法进行供试品的纯化处理, 方法操作简便、结果准确, 可用于复方玄参止咳胶囊的质量控制, 同时也为复方中测定哈巴俄苷提供了一定的参考。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪: LC-6A 泵、SPD-6A V 紫外检测器、SIL-6A 自动进样器, 日本岛津; EC2000 色谱数据处理工作站, 大连依利特科学仪器有限公司; BP211D、BP310P 电子天平, 德国赛多利斯。UV-3000 紫外可见分光光度计, 日本岛津。

乙腈, 色谱纯, 其他试剂均为分析纯。哈巴俄苷对照品, 中国药品生物制品检定所, 批号 111730-200502。水由 RO-40 超纯水机制备。复方玄参止咳胶囊自制, 每粒装 0.5 g。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验: Irregular C₁₈

(250 mm ×4.6 mm, 10 μm); 乙腈-1.0%醋酸 (26:74) 为流动相; 检测波长为 278 nm; 柱温为室温。理论板数按哈巴俄苷峰计算, 应不低于 3 000。

2.2 对照品溶液的制备: 取干燥至恒重的哈巴俄苷对照品约 2.5 mg, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 加 70%乙醇适量, 使溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 精密吸取上述溶液 1.0 mL 置 10 mL 量瓶中, 加 70%乙醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 供试品溶液的制备: 取装量差异项下的本品内容物约 2 g, 精密称定, 置具塞锥形三角瓶中, 精密加入 70%乙醇 50 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 (功率 250 W, 频率 33 kHz) 15 min, 放冷, 再称定质量, 用 70%乙醇补足减失的质量, 摇匀, 离心, 精密量取上清液 25 mL, 蒸干, 残渣加水 15 mL 使溶解, 分次转移至 D-101 大孔吸附树脂柱 (长 18 cm, 内径 1.5 cm) 上, 以水 100 mL 洗脱, 弃去水液, 再用 30%乙醇 100 mL 洗脱, 弃去洗脱液, 继用乙醇 100 mL 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣加 70%乙醇溶解并转移至 10 mL 量瓶中, 加 70%乙醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

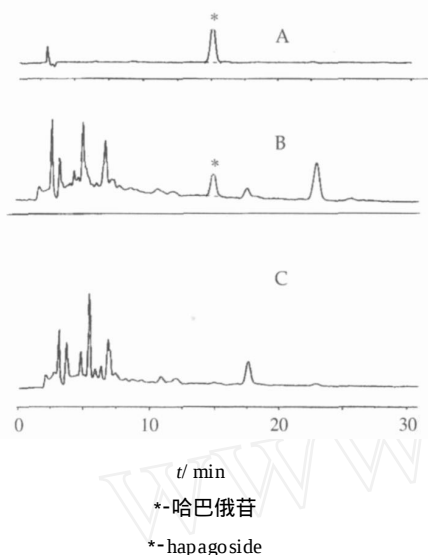
2.4 阴性干扰试验: 处方中去玄参, 同法制备玄参阴性样品, 按供试品溶液制备项下的方法制得相应的阴性供试品溶液, 依法进行测定, 结果阴性不干扰, 见图 1。

2.5 线性关系的考察: 精密称取哈巴俄苷对照品适量, 分别制成 6.125、13.45、26.9、53.8、107.6 μg/mL 的溶液, 各进样 10 μL, 依上述色谱条件测定峰面积。以哈巴俄苷峰面积积分值为纵坐标、进样量

收稿日期: 2008-04-02

作者简介: 刘霞 (1965—), 女, 山西闻喜人, 主任药师, 从事中药新药的研究开发工作。

Tel: (0351) 4668091 E-mail: liuxia650829@126.com



1 哈巴俄苷对照品 (A)、复方玄参止咳胶囊 (B) 和阴性对照 (C) 的 HPLC 图谱

g.1 HPLC Chromatograms of hapagoside reference substance (A), Compound Xuanshen Zhike Capsula (B), and negative sample (C)

(μg) 为横坐标, 计算得回归方程 $Y = 6.9 \times 10^{-5} X + 1.1 \times 10^{-3}$, $r = 0.9999$, 表明哈巴俄苷在 $0.06125 \sim 1.076 \mu\text{g}$ 时与峰面积具有良好的线性关系。

2.6 精密度试验: 精密吸取供试品溶液 $10 \mu\text{L}$, 重复进样 6 次, 结果哈巴俄苷峰面积值的 RSD 为 1.01 %

2.7 稳定性试验: 取供试品溶液, 分别在 0.5、1.0、1.5、2.0、4.0、6.0 24 h, 分别进样 $10 \mu\text{L}$, 记录哈巴俄苷峰面积积分值, 计算其 RSD 为 1.15 %。结果表明, 供试品溶液中的哈巴俄苷色谱峰在 24 h 内稳定性良好。

2.8 重现性试验: 取批号 060910 样品 6 份, 各 2 g, 精密称定, 制备供试品溶液, 分别进样进行测定, 记录哈巴俄苷峰面积并计算。结果显示哈巴俄苷平均质量分数为 0.1420 mg/g , RSD 为 1.23 %。

2.9 回收率试验: 取批号 060910 样品 6 份, 各约 1.0 g, 精密称定, 分别精密加入约 0.189 mg 哈巴俄苷对照品, 制备供试品溶液, 分别进样, 测定, 记录峰面积并计算, 结果平均回收率为 99.6 %, RSD 为 2.06 %。

2.10 样品测定: 取 6 批样品, 依法制成供试品溶液, 分别精密吸取哈巴俄苷对照品溶液和供试品溶液各 $10 \mu\text{L}$ 按上述色谱条件测定, 以外标一点法计

算样品中哈巴俄苷的质量分数, 结果见表 1。根据结果, 确定本品每粒含玄参按哈巴俄苷计算, 不得少于 $60 \mu\text{g}$ 。

表 1 复方玄参止咳胶囊中哈巴俄苷的测定结果

Table 1 Determination of hapagoside in Compound

Xuanshen Zhike Capsula

批号	哈巴俄苷 / $(\mu\text{g} \cdot \text{粒}^{-1})$	RSD/ %	批号	哈巴俄苷 / $(\mu\text{g} \cdot \text{粒}^{-1})$	RSD/ %
20061019	83.6	0.34	20070301	96.6	0.44
20060105	77.2	1.37	20070302	99.2	0.50
20070119	103.5	0.41	20070303	98.0	0.43

3 讨论

3.1 流动相的优选: 采用《中国药典》2005 年版一部玄参项下哈巴俄苷的测定方法中的流动相: 甲醇-乙腈-甲酸-水 (20 80 40 60) 20 min 梯度洗脱, 结果本品中哈巴俄苷与相邻峰色谱峰基线分离度差; 经过调整流动相为乙腈-1.0 % 醋酸 (30 70)、乙腈-1.0 % 醋酸 (26 74), 结果用乙腈-1.0 % 醋酸 (26 74) 流动相测定, 本品中哈巴俄苷与相邻峰色谱峰基线分离效果好, 阴性不干扰, 故确定流动相为乙腈-1.0 % 醋酸 (26 74)。

3.2 供试品的制备方法的优选: 本品所测哈巴俄苷易溶于水、乙醇、甲醇。供试品的制备方法中, 对提取溶剂分别用 30 % 甲醇、60 % 乙醇、70 % 乙醇、80 % 乙醇进行相同时间的超声处理, 并以上述条件进行测定, 结果 70 % 乙醇提取效率最高。故确定提取溶剂采用 70 % 乙醇。在确定提取溶剂的前提下, 与对不同超声时间 (10、15、20、30 min) 进行了比较研究, 结果确定提取时间以超声处理 (功率 250 W, 频率 33 kHz) 15 min 最佳。在上述条件确定以后, 供试品中色谱峰较多, 干扰严重, 为此又进一步进行了纯化处理, 经过采用正丁醇萃取、通过 D-101 大孔吸附树脂柱等方法比较, 通过 D-101 大孔吸附树脂柱制得的供试品, 能完全除去杂质干扰, 色谱峰分离度好, 具有易操作、重复性好、回收率高等优点, 最终确定了上述的供试品制备方法。

参考文献:

- [1] 王建华, 谢丽华, 刘洪宇, 等. 玄参不同加工品中哈巴俄苷与肉桂酸的 HPLC 含量测定 [J]. 中国药学杂志, 2000, 35 (6): 375-378.