

HPLC 法测定活络酊中水杨酸甲酯

徐建白¹, 唐云², 庞东颖¹, 高国鹏³, 吴怡^{1*}, 韦超²

1. 天津市中央药业有限公司, 天津 300400

2. 南京生命能科技开发有限公司, 江苏 南京 210016

3. 中美天津史克制药有限公司, 天津 300163

摘要:目的 建立 HPLC 法测定活络酊中水杨酸甲酯的方法。方法 色谱柱为 Hypersil ODS2 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.01%磷酸溶液(40:60), 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 302 nm, 柱温 30 ℃。结果 水杨酸甲酯在 120.25~2 405 ng 呈良好线性关系($r=0.999\ 8$), 回收率为 99.96%, RSD 为 0.08%; 检出限为 0.481 ng, 定量限为 1.443 ng。结论 该方法简单、可靠、检测限低、重现性好, 可用于活络酊中水杨酸甲酯的质量控制。

关键词: 水杨酸甲酯; 活络酊; HPLC; 质量控制; 定量测定

中图分类号: R286.02 文献标志码: B 文章编号: 0253-2670(2011)10-2026-02

Determination of methyl salicylate in Huoluo Tincture by HPLC

XU Jian-bai¹, TANG Yun², PANG Dong-ying¹, GAO Guo-peng³, WU Yi¹, WEI Chao²

1. The Central Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300400, China

2. Nanjing Lifenergy R&D Co., Ltd., Nanjing 210016, China

3. Tianjin Smith Kline & French Laboratories Ltd., Tianjin 300163, China

Key words: methyl salicylate; Huoluo Tincture; HPLC; quality control; quantitation determination

活络酊处方中含有生川乌、防己、山柰、连钱草、延胡索、干姜、樟脑、薄荷脑、冰片、辣椒、蟾酥 11 味中药及水杨酸甲酯, 具有舒筋祛寒、活血止痛等功效。用于筋骨痛、急性扭伤、肌肉疼痛及风湿痛、肝区疼痛等症。制剂处方中的水杨酸甲酯可促进局部血液循环, 具有消炎止痛作用。本实验采用 HPLC 法对活络酊中水杨酸甲酯进行测定。

1 仪器与材料

Agilent 1100 高效液相色谱仪、四元泵、VWD 检测器、Agilent 1100 化学工作站(美国 Agilent 公司), Mettler AE240 电子分析天平(梅特勒-托利多公司), SYZ—A 石英亚沸高纯水蒸馏器(江苏信达仪器厂)。

水杨酸甲酯对照品(批号 110707-200107, 中国药品生物制品检定所); 乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。活络酊样品(批号 070429、070501、070503, 浙江天一堂药业有限公司)。不含水杨酸

甲酯的空白样品由南京生命能科技开发有限公司制备。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取水杨酸甲酯对照品适量, 加甲醇制成 8 mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 精密吸取活络酊样品 2 mL 至 100 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 过 0.45 μm 滤膜, 即得。

2.1.3 空白对照溶液的制备 取空白样品, 按供试品溶液制备方法制备, 即得。

2.2 色谱条件^[1]

色谱柱为 Hypersil ODS2 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.01%磷酸溶液(40:60), 体积流量 1 mL/min, 测定波长 302 nm, 柱温 30 ℃ 进样量 10 μL。

收稿日期: 2011-03-27

作者简介: 徐建白(1978—), 女, 天津市人, 本科, 工程师, 研究方向为药品制剂技术及生产管理。

Tel: (022)26825595 E-mail: shchddsh@163.com

*通讯作者 吴怡 Tel: (022)86866383 E-mail: wuyi76@163.com

2.3 系统适用性试验

分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液、空白对照溶液，进样，记录色谱图（图 1）。该色谱条件下的分离效果较好；空白对照在与对照品相应的保留时间处未出现杂质峰，表明样品中水杨酸甲酯的测定无干扰。

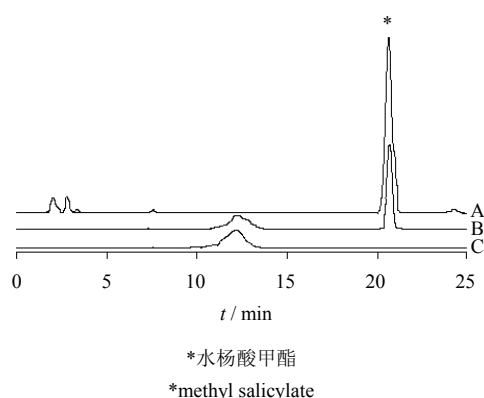


图 1 对照品 (A)、活络酊 (B)、空白对照 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substance (A), Huoluo Tincture (B), and blank control (C)

2.4 水杨酸甲酯的检测限和定量限

取水杨酸甲酯对照品溶液，过 0.45 μm 滤膜，取续滤液，不断以甲醇稀释，并取适量注入色谱仪，最终确定在信噪比为 3:1 时，水杨酸甲酯的检出限为 0.481 ng；在信噪比为 10:1 时，得出其定量限为 1.443 ng。

2.5 线性关系考察

取水杨酸甲酯对照品适量，精密称定，加甲醇制成 2.405 mg/mL 的溶液，摇匀，即得对照品储备液。分别精密吸取对照品储备液 0.05、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 置 10 mL 量瓶中，加甲醇稀释至刻度，分别进样，记录色谱图，以进样量为横坐标，峰面积为纵坐标进行线性回归，得回归方程 $Y = 1\,486.9 X - 30.66$ ， $r = 0.999\,8$ ，可见水杨酸甲酯在 120.25~2 405 ng 线性关系良好。

2.6 精密度试验

取同一样品（批号 070429），制备供试品溶液，连续进样 5 次，测得水杨酸甲酯峰面积的 RSD 为 0.23%。

2.7 稳定性试验

取同一样品（批号 070429），制备供试品溶液，分别于 0、0.5、1、2、4、6、8、12 h 进样，记录色谱图，测得水杨酸甲酯峰面积的 RSD 为 0.24%，表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.8 重现性试验

精密吸取样品（批号 070429）溶液制备供试品溶液，平行 6 份，分别进样，记录色谱图，测得水杨酸甲酯峰面积的 RSD 为 0.66%。

2.9 加样回收率试验

精密吸取活络酊样品（批号 070429）1 mL 置 100 mL 量瓶中，平行 9 份，按其所含水杨酸甲酯量的 0.8、1.0、1.2 倍精密加入一定量的水杨酸甲酯对照品，每个质量浓度平行 3 份，加甲醇至刻度，摇匀，过 0.45 μm 滤膜，分别进样，记录色谱图，测得水杨酸甲酯平均回收率为 99.96%，RSD 为 0.08%。

2.10 样品测定

取 3 批活络酊样品制备供试品溶液，每样平行 3 份，进样，外标法测定样品中水杨酸甲酯的量，结果见表 1。

表 1 活络酊中水杨酸甲酯的测定 ($n=3$)

Table 1 Determination of methyl salicylate in Huoluo Tincture ($n=3$)

批 号	水杨酸甲酯/(mg·mL ⁻¹)
070429	6.91
070501	6.97
070503	7.02

3 讨论

目前，关于水杨酸甲酯的定量测定以 GC 法为主，HPLC 流动相则以酸碱调节 pH，操作较繁琐，本实验采用乙腈-0.01%磷酸溶液（40:60）为流动相的 HPLC 法测定水杨酸甲酯的量，并考察了其检测限和定量限。该方法能有效控制活络酊成品中水杨酸甲酯的量，同时也为水杨酸甲酯的定量测定方法提供了参考。

参考文献

- [1] 李玮玲, 邱 娟. HPLC 法测定复方水杨酸甲酯搽剂的含量 [J]. 广东药学院学报, 2007, 23(5): 533-535.