

HPLC法测定腹可安片中东莨菪内酯的含量

林清^{1*},符小英²,马晓鹞¹(1.广东医学院附属医院药学部,广东湛江 524001;2.广东恒诚制药有限公司,广东湛江 524022)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)16-1519-02

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.16.25

摘要 目的:建立测定腹可安片中东莨菪内酯含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Kromasil C₁₈柱,流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液(23:77, V/V),检测波长为346 nm,流速为1.0 ml/min,柱温为25 ℃,进样量为10 μl。结果:东莨菪内酯检测质量浓度在10.25~82.00 μg/ml范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.9995$);平均加样回收率为99.6%,RSD=0.6%($n=6$)。结论:该方法简便、专属性好、结果准确,可用于腹可安片的质量控制。

关键词 腹可安片;东莨菪内酯;高效液相色谱法;含量测定

Content Determination of Scopoletin in Fukean Tablets by HPLC

LIN Qing¹, FU Xiao-ying², MA Xiao-li¹(1.Dept. of Pharmacy, The Affiliated Hospital of Guangdong Medical College, Guangdong Zhanjiang 524001, China; 2.Guangdong Hengcheng Pharmaceutical Co., Ltd., Guangdong Zhanjiang 524022, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for the content determination of scopoletin in Fukean tablets. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Kromasil C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (23:77, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min under a detection wavelength of 346 nm. The column temperature was 25 ℃ and injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear range of scopoletin was 10.25-82.00 μg ($r=0.9995$) with an average recovery rate of 99.6% (RSD=0.6%, $n=6$). CONCLUSION: The method is simple, specific and accurate, and it can be used for the quality control of Fukean tablets.

KEY WORDS Fukean tablets; Scopoletin; HPLC; Content determination

腹可安片由扭肚藤、火炭母、救必应、车前草、石榴皮等药材组成,具有清热利湿、收敛止痛的功效,主要用于治疗急性胃肠炎,消化不良引起的腹痛、腹泻、呕吐等症。方中扭肚藤、火炭母清热利湿,救必应清热解毒、利湿止痛,共为主药^[1-2]。已有研究^[2-3]报道了该制剂中总黄酮的紫外分光光度(UV)含量测定方法和没食子酸的高效液相色谱(HPLC)含量测定方法,但其药品标准中尚未有专属的主药含量测定项目,且也未见有相关研究报道。扭肚藤为木犀科植物扭肚藤(*Jasminum amplexicaule* Buch.-Ham.)的茎叶,可清热解毒、利湿消滞,用于急性胃肠炎、痢疾等症^[4],其主要化学成分包括东莨菪内酯等^[5]。本试验采用HPLC法建立测定腹可安片中东莨菪内酯含量的方法,以为腹可安片的质量控制提供参考。

1 材料

LC-10A HPLC仪,包括LC-10AD泵、SPD-10A紫外检测器、N2000色谱工作站(日本岛津公司);HN1006型超声清洗机(中国华南超声设备厂);BP211D型电子天平(德国赛多利斯公司)。

东莨菪内酯对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110768-200504);腹可安片(广东恒诚制药有限公司,规格:素片0.21 g/片,批号:1204101、1205101、1206101、1206102、1206103、1207101、1208101、1208102、1208103、1209101);乙

腈为色谱纯,甲醇、磷酸为分析纯,水为重蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Kromasil C₁₈(4.6 mm×150 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.1%磷酸水溶液(23:77, V/V);流速:1.0 ml/min;柱温:25 ℃;检测波长:346 nm;进样量:10 μl。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取减压干燥至恒重的东莨菪内酯对照品适量,加甲醇制成每1 ml含82 μg的溶液,作为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取腹可安片20片,除去包衣,研细,取约0.5 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入甲醇25 ml,密塞,超声处理(功率:250 W,频率:40 kHz)30 min,滤过,用甲醇15 ml分3次洗涤残渣和器皿,分别滤过,全部滤液合并置于蒸发皿中,水浴上挥干,再用流动相溶解残渣并转移至5 ml的量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,滤过(0.45 μm微孔滤膜),取续滤液作为供试品溶液。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 按处方及制备工艺制成缺扭肚藤的阴性样品,取相当于样品的量,按“2.2.2”项下方法制成阴性对照溶液。

2.3 专属性试验

精密吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各10 μl,分别注入HPLC仪,记录色谱图,见图1。结果,对照品

* 副主任药师,本科。研究方向:药物分析。电话:0759-2387681。E-mail:zhanjiangwh@126.com

和供试品色谱中东莨菪内酯峰与其他组分峰达到基线分离,分离度大于1.5,保留时间为16.123 min,理论板数按东莨菪内酯峰计算应不低于2 000;阴性对照色谱在东莨菪内酯色谱峰位置处无干扰。

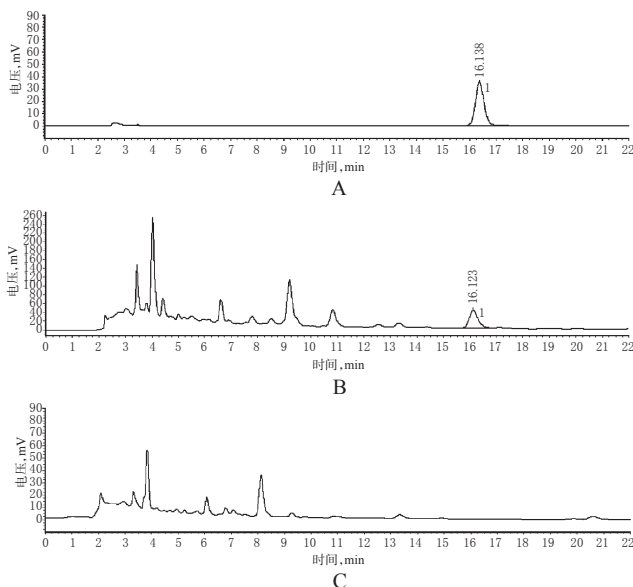


图1 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 东莨菪内酯

Fig 1 HPLC chromatograms

A. substance control; B. test samples; C. negative control; 1. scopolamine

2.4 线性关系考察

精密称取东莨菪内酯对照品适量,加甲醇分别制成每1 ml 含东莨菪内酯10.25、20.50、30.75、41.00、61.50、82.00 μg 的溶液,再分别精密吸取10 μl ,进样,测定峰面积。以东莨菪内酯检测质量浓度(x)为横坐标,峰面积(y)为纵坐标,进行线性回归,得回归方程 $y=6.06 \times 10^{-5}x-3.10$ ($r=0.9995$)。结果表明,东莨菪内酯检测质量浓度在10.25~82.00 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液10 μl ,重复进样6次测定。结果,RSD=0.52%,表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液适量,分别于0、2、4、6、8、12 h 进样测定。结果,RSD=1.2%,表明供试品溶液在12 h 内质量稳定。

2.7 重复性试验

取同一批(批号:1208101)腹可安片适量,共6份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,进样测定。结果,含东莨菪内酯的量平均为492 $\mu\text{g}/\text{g}$,RSD=1.89%,表明本方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

取同一批(批号:1208101)已知含量(含东莨菪内酯的量为492 $\mu\text{g}/\text{g}$)的腹可安片,除去包衣,研细,精密称取0.5 g,置于锥形瓶中,分别精密加入对照品溶液适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果($n=6$)

Tab 1 Results of recovery test($n=6$)

取样量, g	所含量, μg	加入量, μg	测得量, μg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
0.502 2	247.1	246	491.1	99.2		
0.506 5	249.2	246	492.2	98.8		
0.498 8	245.4	246	490.5	99.6	99.6	0.6
0.500 4	246.2	246	491.0	99.5		
0.501 5	246.7	246	492.1	99.8		
0.499 3	245.7	246	493.2	100.6		

2.9 样品含量测定

取10批腹可安片样品,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算含量,结果详见表2。

表2 样品含量测定结果($n=2$)

Tab 2 Results of content determination of sample($n=2$)

批号	每片含主药的量, μg	RSD, %
1204101	123.0	1.0
1205101	128.3	0.8
1206101	107.0	0.3
1206102	142.2	0.5
1206103	137.8	1.1
1207101	112.3	0.6
1208101	165.5	0.3
1208102	117.7	0.6
1208103	108.6	0.7
1209101	178.4	0.5

3 讨论

在选择流动相的时候,笔者曾参考文献^[6]采用甲醇-0.5%醋酸(40:60, V/V)为流动相,但是分离效果不是很好。后改用乙腈-0.1%磷酸水溶液(23:77, V/V)为流动相,所得东莨菪内酯峰形较好,且分离度良好。

制备供试品溶液时,将提取液的溶剂挥干后用流动相复溶,减少了溶液中的弱极性成分,并减少了每次分析后强保留的杂质,可缩短分析时间,保护色谱柱。同时,以流动相溶解,可避免因为供试品溶液溶剂洗脱力强而导致溶剂峰产生拖尾,提高分离度。

综上所述,本方法简便、专属性好、结果准确,可用于腹可安片的质量控制。

参考文献

- [1] 卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准: 中药成方制剂第十一册[S]. 1996: 200.
- [2] 国家食品药品监督管理局. 国家中成药标准汇编: 内科脾胃分册[S]. 2002: 683-685.
- [3] 李镜友, 陈军, 张小兵, 等. 腹可安片质量标准的研究[J]. 中医药导报, 2007, 13(7): 95.
- [4] 广东省食品药品监督管理局. 广东省中药材标准: 第一册[S]. 广州: 广东科技出版社, 2004: 109-110.
- [5] 彭维, 王小锐, 王永刚, 等. HPLC法测定扭肚藤药材中东莨菪素的含量[J]. 中药材, 2007, 30(5): 562.
- [6] 刘锐锋, 李运景, 萧喜文, 等. RP-HPLC法测定清肺合剂中东莨菪内酯的含量[J]. 中国药房, 2010, 21(35): 3 329.

(收稿日期: 2013-01-17 修回日期: 2013-03-17)