

HPLC法测定清开灵软胶囊中(*R,S*)-告依春的含量^Δ

王璐*,戴敬,牛小莲(河北省食品药品检验院,石家庄 050011)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)28-2674-02

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.28.28

摘要 目的:建立测定清开灵软胶囊中(*R,S*)-告依春含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为资生堂CAPCELL MG II柱,流动相为甲醇-水(5:95, *V/V*),检测波长为240 nm,流速为1.0 ml/min,进样量为10 μl,柱温为25 ℃。结果:(*R,S*)-告依春进样量在0.004 5~0.45 μg范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.999\ 9$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD均≤0.7%;平均加样回收率为97.8%,RSD=1.1%($n=9$)。结论:本方法简便、准确、重复性好,适用于清开灵软胶囊的质量控制。

关键词 清开灵软胶囊;(*R,S*)-告依春;高效液相色谱法;含量测定

Content Determination of (*R,S*)-Goitrin in Qingkailing Soft Capsule by HPLC

WANG Lu, DAI Jing, NIU Xiao-lian (Hebei Institute for Food and Drug Control, Shijiazhuang 050011, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for the determination of (*R,S*)-Goitrin in Qingkailing soft capsule. METHODS: HPLC methods was adopted. A Shiseido CAPCELL MG II column with mobile phase consisted of methanol-water (5:95, *V/V*) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 240 nm and the column temperature was 25 ℃. The sample size was 10 μl. RESULTS: The linear range of (*R,S*)-Goitrin was 0.004 5-0.45 μg ($r=0.999\ 9$). RSDs of precisions, stability and reproducibility tests were lower than and equal to 0.7%. The average recovery of 97.8% (RSD=1.1%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reproducible. It can be used for the quality control of Qingkailing soft capsule.

KEY WORDS Qingkailing soft capsule; (*R,S*)-Goitrin; HPLC; Content determination

清开灵软胶囊是由胆酸、珍珠母、猪去氧胆酸、栀子、水牛角、板蓝根、黄芩苷、金银花8味中药组成的软胶囊剂,基质为玉米油、大豆磷脂和蜂蜡,具有清热解毒、镇静安神的功效,主要用于治疗上呼吸道感染、病毒性感冒、急性化脓性扁桃体炎等症。方中药味板蓝根具有清热解毒、凉血利咽之功效^[1],文献^[2-4]报道其主要含有生物碱类、芥子苷类、有机酸类、苯丙素类、核苷类、氨基酸类、黄酮类、甾醇类化合物和含硫化合物。有研究^[5-6]表明,含硫化合物(*R,S*)-告依春为板蓝根抗流感病毒成分的代表。清开灵软胶囊现行质量标准^[1]中未对板蓝根有效成分进行含量控制,故笔者采用高效液相色谱(HPLC)法对该药中(*R,S*)-告依春含量进行了测定。本研究对测定脂溶性基质制剂中的水溶性成分有实际参考意义,同时为更全面地控制清开灵软胶囊质量提供了依据。

1 材料

1.1 仪器

UltiMate 3000 HPLC仪(美国戴安公司);Mettler AE163电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

1.2 药品与试剂

(*R,S*)-告依春对照品(中国食品药品检定研究院,批号:111753-201103,供含量测定用,质量分数:99.5%);清开灵软胶囊(石家庄神威药业股份有限公司,批号:12052111、11101531、11031011、11030812);甲醇为色谱纯,其余试剂为分析纯,水为高纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件和系统适用性

色谱柱:资生堂CAPCELL MG II柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水(5:95, *V/V*);流速:1.0 ml/min;检测波长:240 nm;进样量:10 μl;柱温:25 ℃。在上述色谱条件下,样品中(*R,S*)-告依春色谱峰与其他成分的色谱峰能达到较好的基线分离,分离度大于1.5,理论板数以(*R,S*)-告依春峰计算应不低于6 000。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 取(*R,S*)-告依春对照品适量,精密称定,加30%甲醇制成每1 ml含4.497 μg的溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取其标准装量差异项下的样品内容物适量,混匀,取约0.5 g,精密称定,加入30%乙醇25 ml,称定质量,置于水浴中加热回流,30 min时取出,趁热旋摇使分散,再置于水浴中回流30 min,取出,放冷,再称定质量,用30%乙醇补足缺失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 按处方比例称取除板蓝根外的其他药味,按其质量标准中的制备方法制备阴性样品,再按“2.2.2”项下方法制备溶液,即得。

2.3 专属性试验

精密吸取上述对照品溶液、供试品溶液与阴性对照溶液各10 μl,分别注入HPLC仪进样,记录色谱,详见图1。由图1可见,供试品色谱中呈现与对照品色谱保留时间一致的色谱峰,阴性对照色谱中在相应保留时间处无色谱峰,说明其他药味不干扰(*R,S*)-告依春的测定。

2.4 线性关系考察

^Δ 基金项目:河北省中医药管理局科研计划项目(No.2010108)

* 主管药师,本科。研究方向:药品检验和标准。电话:0311-85212004-8042。E-mail:wanglua0306@163.com

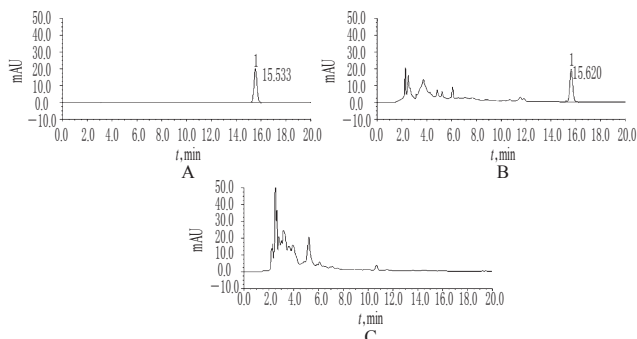


图1 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. (R,S)-告依春

Fig 1 HPLC chromatograms

A. standard control; B. sample C. negative sample; 1. (R,S)-Goitrin
分别精密吸取“2.2.1”项下的(R,S)-告依春对照品溶液1、3、7、10 μl,再取(R,S)-告依春对照品,精密称定,加30%甲醇制成质量浓度为14.989 μg/ml的对照品溶液,分别精密吸取10、20、30 μl,进样测定。以进样量(x, μg)为横坐标,峰面积(y)为纵坐标,进行线性回归,得回归方程 $y = -0.148 + 126.22x$ ($r = 0.9999$)。结果表明,(R,S)-告依春进样量在0.0045~0.45 μg范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.5 最低检测限和定量限

制备质量浓度为0.0102 μg/ml的(R,S)-告依春对照品溶液,进样10 μl,测得最低检测限($S/N \geq 3$)为0.1 ng,定量限($S/N \geq 10$)为0.3 ng。

2.6 精密度试验

精密吸取“2.2.1”项下的(R,S)-告依春对照品溶液适量,重复进样测定5次。结果,RSD=0.4%,表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

精密吸取“2.2.2”项下同一供试品溶液(批号:12052111)适量,在配制后0、2、5、11、16、30 h时进样测定。结果,RSD=0.7%,表明供试品溶液至少在30 h内质量保持稳定。

2.8 重复性试验

精密称取样品(批号:12052111)9份,0.4、0.5、0.6 g分别各3份,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和计算。结果,含(R,S)-告依春的量平均为0.2471 mg/g,RSD=0.7%,表明本方法重复性良好。

2.9 加样回收率试验

精密称取含(R,S)-告依春量为0.2471 mg/g的样品(批号:12052111)9份,各0.25 g,分别精密加入(R,S)-告依春对照品9份(高、中、低各3份),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。

2.10 样品含量测定结果

分别取4批样品适量,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,记录峰面积,计算含量,结果见表2。

3 讨论

3.1 提取溶剂选择

本品含脂溶性基质,较黏稠,超声提取时溶剂穿透力差,提取效率低,因此选择热回流提取。《中国药典》2010年版(一部)板蓝根含量测定项下采用加水煎煮的方式制备供试品溶液,表明(R,S)-告依春有一定的水溶性,因此试验过程中考察了水、30%乙醇、50%乙醇、70%乙醇回流对提取率的影响。

表1 加样回收率试验结果(n=9)

Tab 1 Results of recovery tests(n=9)

取样量, g	所含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
0.251 1	0.062 05	0.044 97	0.106 20	98.18		
0.251 3	0.062 10	0.044 97	0.105 40	96.29		
0.251 5	0.062 15	0.044 97	0.106 20	97.95		
0.252 8	0.062 47	0.059 96	0.120 90	97.45		
0.252 7	0.062 44	0.059 96	0.121 30	98.17	97.8	1.1
0.252 7	0.062 44	0.059 96	0.122 00	99.33		
0.252 2	0.062 32	0.074 94	0.134 40	96.18		
0.251 9	0.062 24	0.074 94	0.135 60	97.89		
0.252 0	0.062 27	0.074 94	0.136 20	98.65		

表2 样品含量测定结果(n=2)

Tab 2 Results of content determination of samples(n=2)

批号	含(R,S)-告依春的量, μg/粒
12052111	99.0
11101531	68.0
11031011	51.0
11030812	37.0

结果发现,以水回流提取时结果偏低,回收率仅为90%左右,后3种提取溶剂测定结果基本一致。因50%乙醇、70%乙醇能溶解部分基质,所制备的供试品溶液和流动相混合后会析出油脂,产生浑浊,可能会对液相系统造成一定影响,故选择30%乙醇作为提取溶剂。在回流中增加趁热旋摇步骤,先使样品分散成小油滴,再继续回流提取,可促进提取溶剂的充分渗入,提高提取效率。此外,还比较了先回流30 min后继续回流30 min与1 h的提取效果,结果继续回流30 min即可提取完全。

3.2 对照品溶液溶剂选择

本方法流动相中绝大部分溶剂为水,为降低对(R,S)-告依春峰形的影响,以30%甲醇为溶剂制备对照品溶液,可获得对称、尖锐的峰形。

3.3 检测波长选择

《中国药典》2010年版(一部)板蓝根含量测定项下检测波长为245 nm。笔者用二极管阵列检测器在200~400 nm波长范围进行全扫描,结果(R,S)-告依春在240 nm波长处有最大吸收。为提高检测灵敏度,选择240 nm作为检测波长。

综上所述,本方法简便、准确、重复性好,适用于清开灵软胶囊的质量控制。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 191, 1 107-1 109.
- [2] 安逸强, 贾晓斌, 袁海建, 等. 板蓝根抗病毒物质基础研究思路[J]. 中草药, 2008, 39(4): 616.
- [3] 肖珊珊, 金郁, 孙毓庆, 等. 板蓝根化学成分、药理及质量控制研究进展[J]. 沈阳药科大学学报, 2003, 20(6): 455.
- [4] 孔东东, 何立巍, 李祥, 等. 板蓝根化学成分研究[J]. 中国药房, 2007, 18(3): 172.
- [5] 徐丽华, 黄芳, 陈婷, 等. 板蓝根中的抗病毒活性成分[J]. 中国天然药物, 2005, 3(6): 359.
- [6] 黄芳, 熊雅婷, 徐丽华, 等. 板蓝根不同提取物中抗病毒成分表告依春在大鼠体内的药代动力学[J]. 中国药科大学学报, 2006, 37(6): 519.

(收稿日期:2013-03-23 修回日期:2013-05-21)