

高效液相色谱法测定妇科千金分散片中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的含量

★ 郑彩霞¹ 徐小岗² 李喜平² (1. 浙江省衢化医院 衢州 324004; 2. 浙江天昊药业有限公司 衢州 324002)

摘要:目的:高效液相色谱法测定妇科千金分散片中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的含量。方法:采用高效液相色谱法以甲醇:水=52:48 为流动相,SHIMADZU VP-ODS (150×4.6 mm)为分析柱,穿心莲内酯紫外检测波长为 225 nm,脱水穿心莲内酯紫外检测波长为 254 nm。结果:穿心莲内酯线性范围为 0.200 4~2.040 0 μg, $r=0.999\ 9$,测得平均回收率为 99.1%, $RSD=1.9\%$;脱水穿心莲内酯线性范围为 0.117 2~0.702 4 μg, $r=0.999\ 9$,测得平均回收率为 99.4%, $RSD=1.1\%$ 。结论:本法简便、快速、灵敏可作为该制剂质量控制的有效方法。

关键词:高效液相色谱法;妇科千金分散片;穿心莲内酯;脱水穿心莲内酯

中图分类号:R 927.2 **文献标识码:**A

妇科千金分散片是我公司按中药、天然药物注册分类第 8 类要求研制的新药。穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯为穿心莲的有效成分之一,原妇科千金片质量标准中仅对穿心莲内酯成分采用液相色谱法进行含量测定,本品种还对脱水穿心莲内酯也做了含量测定。本文建立了穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯的含量测定,并进行方法学验证,结果满意。且该方法简便、快速、灵敏,可作为该制剂质量控制的有效方法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Waters2690-996 系列高效液相色谱仪,UV-260 紫外可见分光光度计,BOLOG 超声清洗器。

1.2 药品 穿心莲内酯对照品(含量测定用,0797-

200105),脱水穿心莲内酯对照品(含量测定用,110854-200305),中国药品生物制品检定所;妇科千金分散片、缺味样品(浙江天昊药业有限公司), (规格:0.7g/片,批号:040801,040802,040803;规格:0.7 g/片,批号:040804,040805,040806);甲醇(优级纯,北京化工厂)。

2 实验方法与结果

2.1 对照品溶液的制备 精密称取穿心莲内酯对照品适量,加甲醇制成每 1 ml 含 200.4 μg 的溶液,即得;精密称取脱水穿心莲内酯对照品适量,加甲醇制成每 1 ml 含 117.2 μg 的溶液,即得。

2.2 供试品溶液的制备 取装量差异项下供试品,精密称取适量置容量瓶中,加甲醇,超声处理 20 分

作为供试品溶液,在 288 nm 的波长处测定吸收度;另取水飞蓟宾对照品适量,精密称定,用适量甲醇溶解,以甲醇稀释制成每 1 ml 中含约 15 μg 的溶液,同法测定,计算出每丸的溶出量。限度为标示量的 70%,应符合规定。

2.3 方法学验证

用上述方法对同一厂家的 3 批样品进行溶出度考察,结果均在 90% 以上,符合规定。

回收率试验:取本品适量,研细,分别取相当于含水飞蓟宾 1.87 mg 的益肝灵滴丸各 6 份,精密称定,置溶出杯中,分别加入水飞蓟宾对照品溶液(1.98 mg/mL)各 1 mL,按上述确定后的溶出度方法测定,在 288 nm 处分别测定吸收度,测定其含量,并计算回收率,平均回收率为 99.16%, RSD 为 1.65%,表明该方法有良好的准确性。

3 讨论

为更好的控制产品质量,我们在参照药典溶出度测定通用方法的基础上,建立了益肝灵滴丸的溶出度测定方法,并进行了方法学考察。利用紫外分光光度法测定益肝灵片中水飞蓟素的含量,在溶出度试验中,以多种介质进行了方法学研究,最后确定 0.5% 十二烷基硫酸钠为益肝灵滴丸的溶出溶媒,转速为 50 r/min,发现该方法稳定准确、简单可靠,可用于水飞蓟素体外溶出度测定。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)[M]. 北京:化学工业出版社,2005:附录 74.
- [2] 药品标准·WS3-B-1618-93[S], 益肝灵片.

(收稿日期:2009-05-14 责任编辑:查青林)

钟,取出,放冷。加甲醇至刻度,摇匀,滤过,即得。

2.3 测定条件的选择 根据中国药典2005年版一部穿心莲药材及相关文献^[1,2],以及穿心莲内酯对照品溶液和脱水穿心莲内酯对照品溶液的紫外光谱,结果显示,穿心莲内酯与脱水穿心莲内酯分别在225、254 nm波长处有最大吸收,故选择上述波长处进行测定。

穿心莲内酯对照品溶液,妇科千金分散片供试品溶液及缺穿心莲的阴性样品溶液的色谱图显示前面二者在相同位置有相同波峰,而后者没有。脱水穿心莲内酯对照品溶液,妇科千金分散片供试品溶液及缺穿心莲的阴性样品溶液的色谱图显示前面二者在相同位置有相同波峰,而后者没有。

2.4 提取条件的选择 为保证供试品中穿心莲内酯与脱水穿心莲内酯提取充分,分别对提取溶剂和提取时间进行了考察。结果以甲醇作为提取溶剂,超声时间20分钟较佳。

2.5 标准曲线的制备 (1)精密量取穿心莲内酯对照品溶液(200.4 μg/ml)适量,加甲醇稀释配制浓度为20.04、60.12、100.20、140.14、200.40 μg/ml的溶液,注入液相色谱仪,测定峰面积Y,根据最小二乘法计算以进样量X(μg)为横坐标,以峰面积Y为纵坐标的回归方程: $Y = 15\,283X + 10\,424$,相关系数为:0.999 9,结果表明穿心莲内酯在0.200 4~2.040 0 μg范围内,进样量与峰面积呈良好的线性关系。

(2)精密量取脱水穿心莲内酯对照品溶液(117.2 μg/ml)适量,加甲醇稀释配制浓度为11.72、23.44、35.16、58.60、70.32 μg/ml的溶液,注入液相色谱仪,测定峰面积Y,根据最小二乘法计算以进样量X(μg)为横坐标,以峰面积Y为纵坐标的回归方程: $Y = 21\,349X + 3\,416.3$,相关系数为:0.999 9,结果表明脱水穿心莲内酯在0.117 2~0.702 4 μg范围内,进样量与峰面积呈良好的线性关系。

2.6 重现性试验 取同一批样品共6份,按以上色谱条件测定穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯含量(mg/g),结果穿心莲内酯的平均含量为:2.02 mg/g, $RSD = 0.40\%$ ($n = 6$);脱水穿心莲内酯的平均含量为:0.45 mg/g, $RSD = 1.99\%$ ($n = 6$)。

2.7 精密度试验 取对照品溶液,按以上色谱条件,分别重复进样6次,测定峰面积。结果穿心莲内酯的 RSD 为0.16% ($n = 6$);脱水穿心莲内酯的 RSD 为0.02% ($n = 6$)。

2.8 加样回收率试验 (1)精密称取已知含量样

品9份,精密加入穿心莲内酯对照品适量,按以上色谱条件测定含量,结果平均回收率为99.10%, $RSD = 1.90\%$ 。结果见表1。

表1 穿心莲内酯加样回收试验结果

序号	样品中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
1	2.020	1.010	3.044	100.89	99.10	1.90
2	2.040	1.010	3.058	100.76		
3	2.021	1.010	3.044	101.24		
4	2.021	2.020	3.971	96.56		
5	2.022	2.020	4.032	99.50		
6	2.032	2.020	4.064	100.60		
7	2.021	3.030	4.980	97.69		
8	2.022	3.030	4.960	96.95		
9	2.021	3.030	4.979	97.61		

(2)精密称取已知含量样品9份,精密加入脱水穿心莲内酯对照品适量,按以上色谱条件测定含量,结果平均回收率为99.42%, $RSD = 1.07\%$ 。结果见表2。

表2 脱水穿心莲内酯加样回收试验结果

序号	样品中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
1	0.455	0.230	0.688	100.24	99.42	1.07
2	0.451	0.230	0.683	99.64		
3	0.450	0.230	0.684	99.28		
4	0.455	0.460	0.911	100.22		
5	0.455	0.460	0.914	99.87		
6	0.455	0.460	0.919	101.02		
7	0.455	0.690	1.131	98.04		
8	0.455	0.690	1.134	98.51		
9	0.459	0.690	1.135	97.96		

2.9 样品测定 4批样品按正文方法提取测定含量,测定结果见表3。

表3 样品测定结果

批号	穿心莲内酯	脱水穿心莲内酯/mg·片 ⁻¹	总量
040601	1.42	0.30	1.72
040602	1.44	0.30	1.74
040603	1.40	0.29	1.69
040604	1.43	0.30	1.73

3 讨论

(1)穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯为穿心莲的主要成分,而穿心莲为方中的君药,其含量的高低与本品疗效有密切关系,故作为本品的定量指标较为适宜。

(2)本法简便,灵敏度高,可达控制本品质量之目的。

参考文献

- [1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典(二部)[M]. 北京:化学工业出版社,2005:158.
- [2] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:化学工业出版社,2005:176.

(收稿日期:2009-07-14 责任编辑:查青林)