

HPLC 测定芩百清肺浓缩丸中次黄嘌呤

王伟明, 霍金海*, 孙国东
(黑龙江省中医研究院, 哈尔滨 150036)

[摘要] 目的: 建立芩百清肺浓缩丸中次黄嘌呤的高效液相含量测定法。方法: 采用 HPLC-DAD 法, 色谱柱 Diamonsil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm 5 μm); 流动相甲醇-水 (2:98), 检测波长 254 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C。结果: 次黄嘌呤在 1.94 ~ 31.04 μg 呈良好线性关系 $r = 0.9999$, 平均回收率为 99.14%, RSD 1.28%。结论: 方法操作简便、灵敏度高、准确性和重复性好, 可作为芩百清肺浓缩丸的质量控制方法。

[关键词] 芩百清肺浓缩丸; 次黄嘌呤; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)12-0070-02

Determination of Hypoxanthine in Qinbai Qingfei Concentrated Pills by HPLC

WANG Wei-ming, HUO Jin-hai*, SUN Guo-dong
(Heilongjiang Academy of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150036, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the HPLC-DAD method for determination of the Hypoxanthine in Qinbaiqingfeinongsuo pills. **Method:** The separation was performed in a Diamonsil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm 5 μm) column with a mobile phase of methanol-water (2:98) in a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹ elution at 254 nm and the column temperature was 30 °C. **Result:** The linear range of Hypoxanthine was 1.94-31.04 mg·L⁻¹ ($r = 0.9999$). The average recovery was 99.14%, RSD 1.28%. **Conclusion:** This method is simple, reliable, accurate, which offers advantages of higher sensitivity and precision. It can be used for quality control of Qinbai qingfei nongsuo pills.

[Key words] Qinbai Qingfei concentrated pills; hypoxanthine; HPLC

芩百清肺浓缩丸是由黄芩、百部等 6 味中药组成的复方制剂, 临床研究结果表明芩百清肺浓缩丸总有效率高于临床首选药物阿奇霉素颗粒。为了控制芩百清肺浓缩丸质量, 保证临床用药安全有效。本文选择该制剂中地龙的主要有效成分次黄嘌呤作为指标成分, 进行含量测定及方法学研究。本文旨在建立其含量测定方法, 以更好地控制该制剂。结果表明, 本方法专属性强、干扰小、重复性好, 可用于芩百清肺浓缩丸质量控制。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 型高效液相色谱仪 (DAD 检测器), Diamonsil 钻石 C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm 5 μm), KQ-300DB 型数控超声仪 (昆山市超声仪器有限公司), BP211D 型电子天平 (德国 Sartorius 公司), 甲醇, 色谱纯, 美国迪马 (DIKMA) 试剂公司, 其余试剂为分析纯。

次黄嘌呤对照品 (中国药品生物制品检定所提供, 批号 140661-200903); 芩百清肺浓缩丸及阴性供试品由黑龙江中医研究院中药所制备, 药材购于安徽沪谯中药科技有限公司 (生产许可证: 皖 Y20050027)。甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱为 Diamonsil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm 5 μm), 流动相甲醇-水 (2:98), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C, 检测波长 254 nm, 进样量为

[收稿日期] 20110125(004)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项 (2010ZX09101-404)

[第一作者] 王伟明, 博士, 研究员, 从事中药新药研发, Tel: 0451-55665478, E-mail: zyyjy@163.com

[通讯作者] * 霍金海, 硕士, 助理研究员, 从事中药制剂分析及质量标准研究, Tel: 0451-55665478, E-mail: jinhaihuo@126.com

10 μL 。理论板数按次黄嘌呤峰计算不低于 3 000。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取次黄嘌呤对照品 1.94 mg,置 25 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,作为贮备液;精密吸取贮备液 1 mL,置 10 mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品,研细,取约 1.0 g 精密称定,精密加入 70% 乙醇 50 mL,称定质量,加热回流提取 1 h,放冷,再称定质量,用 70% 乙醇补足减失的质量,摇匀,过滤。精密吸取续滤液 10 mL,蒸干,残渣加水溶解并转移至 5 mL 量瓶中,稀释至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.2.3 阴性样品溶液的制备 取缺少地龙的阴性样品,按供试品溶液的制备方法制备阴性样品溶液。

2.3 系统适应性试验 精密吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性样品溶液注入色谱仪,记录色谱图,结果见图 1。

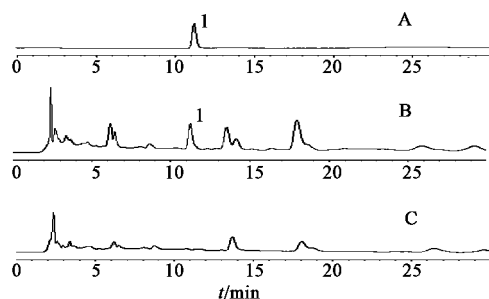


图 1 HPLC 系统适应性色谱

A. 对照品;B. 供试品;C. 缺地龙阴性供试品;1. 次黄嘌呤

由图 1 可见,次黄嘌呤峰保留时间为 11.18 min,阴性对照色谱在此处无假阳性峰,表明其他组分对测定无干扰。次黄嘌呤峰与其他组分的分离度为 4.87,理论塔板数以次黄嘌呤峰计算为 8 692。

2.4 线性关系的考察 精密吸取对照品贮备液 0.25, 0.5, 1, 2, 4 mL,分别置 10 mL 量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,作为各浓度次黄嘌呤对照品溶液。精密吸取各浓度对照品溶液 10 μL ,进样分析。以次黄嘌呤质量为横坐标,峰面积为纵坐标,进行线性回归,得到回归方程 $Y = 3\,879.6X - 2.714\,4$ ($r = 0.999\,9$),表明次黄嘌呤在 1.94 ~ 31.04 μg 呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验 精密吸取同一次黄嘌呤对照品溶液(7.76 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$),重复进样 6 次。各 10 μL ,记录色谱图。计算次黄嘌呤峰面积值 RSD 0.82%。

表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液,室温放置。于 0, 2, 4, 6, 8 h 进样测定。计算供试品中次黄嘌呤峰面积值 RSD 0.96%。表明供试品溶液在 8 h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验 取同一批供试品(批号 100610),分别制备 5 份供试品溶液,进行测定,记录色谱峰,计算供试品中次黄嘌呤含量, RSD 1.43%。表明此法重复性良好。

2.8 回收率试验 取同一批供试品(批号 100610) 6 份,每份约 1 g,精密称定,分别精密加入一定量的次黄嘌呤对照品,进样测定,计算回收率,结果次黄嘌呤平均回收率为 99.14%, RSD 1.28% ($n = 6$)。表明本方法回收率好,方法可靠。

表 1 黄嘌呤加样回收率试验

称样量 /g	样品中含量 / μg	加入量 / μg	测得量 / μg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1.005 2	110.702 7	116.4	226.307 8	99.65		
1.020 4	112.376 7	116.4	225.390 8	98.52		
1.021 0	112.442 7	116.4	229.300 4	100.2		
1.052 0	115.856 8	116.4	226.264 5	97.42	99.14	1.28
1.010 4	111.275 4	116.4	223.736 6	98.27		
1.065 4	117.332 5	116.4	235.485 5	100.75		

2.9 样品测定 按 2.2.2 方法制备供试品溶液,按 2.1 色谱条件对 3 批样品进行含量测定。3 批芩百清肺浓缩丸中次黄嘌呤平均质量分数 106.60 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

3 讨论

在供试品溶液制备方法的选择过程中,根据文献报道^[1],首先选择水提法,但由于芩百清肺浓缩丸含有大量多糖等水溶性物质,过滤困难,色谱峰分离度不好。进一步选择醇提法,发现直接进样会导致色谱峰裂分,将其蒸干后水溶进样,峰形较好。同时考察了不同浓度乙醇提取效率,以 70% 乙醇回流提取效果最好,各项方法学考察符合分析方法的要求,且阴性背景小,无干扰,方法专属性强。

《中国药典》地龙项下无含量测定方法^[2]。本试验建立的次黄嘌呤含量测定方法,可用于地龙药材及芩百清肺浓缩丸的质量控制,保证临床疗效。

[参考文献]

- [1] 李坚,龙晓英,何琳,等. HPLC 法测定不同产地广地龙中次黄嘌呤的含量[J]. 中药材, 2006, 29(5):448.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2010:113.

[责任编辑 蔡仲德]