

HPLC 法测定豆腐果苷滴丸中豆腐果苷的含量*

刘波, 朱兆云[△], 王京昆, 赵红伟

(云南省药物研究所, 云南昆明 650111)

[摘要] 目的: 建立高效液相色谱法测定豆腐果苷滴丸中豆腐果苷含量的方法。方法: 采用 Agilent SB - C₁₈ 柱 (4.6 × 250mm, 5μm), 流动相为乙腈 - 水 - 冰醋酸 (10: 89: 1), 流速 1.0mL · min⁻¹, 检测波长 270nm, 柱温 40℃。结果: 豆腐果苷在 0.1011 ~ 2.022μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系 ($r = 0.99998$), 平均回收率 100.74%, RSD 为 2.44% ($n = 9$)。结论: 本法简单、快速、分析结果准确、专属性强, 可用于豆腐果苷滴丸的质量控制。

[关键词] 高效液相色谱法; 豆腐果苷; 滴丸; 含量测定

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1000—2723(2010)02—0001—03

豆腐果苷 (Helicid) 为山龙眼科植物萝卜树 *Helica nilagirica* Beed 果实中提取的单体成分, 系对苯甲醛 - O - β - D - 阿洛吡喃糖苷 (C₁₃H₁₆O₁₇), 主要作用于神经衰弱、神经衰弱综合症及血管性头痛等症, 适用于缓解神经官能症的头痛、头昏及睡眠障碍, 辅助治疗原发性头痛。目前豆腐果苷的剂型仅有片剂, 品种较为单一。而滴丸剂是 1971 年才在我国上市的一种新剂型, 是由药物和固体基质加热熔融成溶液、混悬液或乳液后, 滴入不相混溶的冷凝液中, 由于熔融液滴在冷凝液中的界面张力作用而收缩成丸, 随后冷凝成固态而制得。滴丸剂是固体分散体的一种形式。滴丸是在中药丸剂的基础上发展起来的, 具有传统丸剂所没有的多种特点, 故发展非常迅速。而与传统的片剂相比, 滴丸具有表面积大、溶出速度快、发挥药效快、胃肠刺激作用小、携带和服用方便等优点, 且对其主要成分的研究与质量控制已达分子水平。由于滴丸是骤冷条件下形成的固体分散体, 药物以极小的晶粒存在, 故可提高难溶性药物的生物利用度, 如舌下含服经舌粘膜迅速吸收进入血循环, 因而起效快。且滴丸工艺简单, 对设备的要求不高, 因此受到医药界广泛的重视。近年来随着与滴丸相关辅料和制备工艺研究的不断深入和发展, 滴丸剂这一优良剂型

开始引人注目并有良好发展前景的剂型。

豆腐果苷滴丸是以豆腐果苷为原料, PEG4000、PEG6000 为骨架材料并加入适量矫味剂滴制而成的丸剂。豆腐果苷为豆腐果苷滴丸的有效成分, 为了有效的控制该制剂的质量, 本文采用高效液相色谱法测定豆腐果苷滴丸中豆腐果苷的含量, 结果所采用的方法快速简单, 结果准确, 重现性好, 可用于豆腐果苷滴丸的含量测定。

1 仪器与试剂

METTLER TOLEOD AB 204 - N 电子天平, 岛津 UV2501 紫外分光光度计, Agilent1100 高效液相色谱仪, DAD 检测器, C₁₈ 柱 (4.6 × 250mm, 5μm), Agilent 色谱工作站, 豆腐果苷对照品 (批号 100385 - 200401, 含量测定用, 中国药品生物制品检定所提供), 豆腐果苷滴丸 (规格: 5mg, 批号 20050427, 20050601, 20050605, 20050608) 由云南省药物研究所制剂室提供, 乙腈为色谱纯、水为超纯水, 冰醋酸为分析纯。

2 色谱条件

Agilent SB - C₁₈ 柱 (4.6 × 250mm, 5μm), 乙腈 - 水 - 冰醋酸 (10: 89: 1) 为流动相; 检测波长 270nm; 柱温为 40℃; 流速为 1.0mL · min⁻¹; 进样量为 10μL; 理论板数按豆腐果苷峰计算应不低于 5 000^[1]。

* 基金项目: 云南省科技计划项目 (No: 2006PY06)

作者简介: 刘波 (1963 ~), 女, 云南昆明人, 高级工程师, 主要从事药品分析、制剂研究。△ 通讯作者: 朱兆云, Tel: 0871 - 8414080。

3 溶液的配制

3.1 对照品溶液的配制

取豆腐果苷对照品适量,精密称定,加流动相溶解制成每1mL约含豆腐果苷40 μ g的溶液,作为对照品溶液。

3.2 样品溶液的配制

取本品10粒,精密称定,置50mL量瓶中,加水约40mL,超声提取20min,放冷至室温,加水稀释至刻度,振匀,滤过,弃去初滤液,精密量取续滤液1mL,置25mL量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液^[2]。

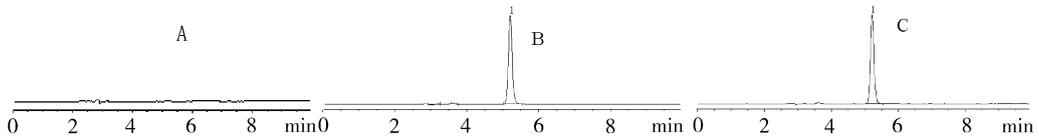


图1 豆腐果苷滴丸高效液相色谱图

A. 阴性样品 B. 标准品 C. 样品 1. 豆腐果苷

3.3 阴性样品溶液的配制

按处方量称取除豆腐果苷外的其余基质,依制剂工艺制备成阴性样品滴丸,按“3.2”项下方法制备成阴性样品溶液。

4 方法与结果

4.1 系统适用性

分别精密吸取对照品溶液,样品溶液及阴性样品溶液,在上述色谱条件下进行分析,记录色谱图,结果见图1,样品中豆腐果苷色谱峰拖尾因子为0.97,理论板数为10 000。测定结果表明:阴性样品溶液不干扰豆腐果苷的测定。

4.2 线性关系

精密称取豆腐果苷对照品10.11mg置50mL容量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,制得对照品溶液(0.2022mg \cdot ml⁻¹),精密吸取对照品溶液0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 10mL分别置10mL容量瓶中,用流动相定容至刻度,摇匀。精密吸取10 μ L,分别进样,记录峰面积,以浓度(X)对峰面积(Y)进行线性回归,得回归方程 $Y = 32969.7X + 16.25$ ($r = 0.99998$)结果表明,在上述色谱条件下,豆腐果苷在0.1011~2.022 μ g范围内呈良好的线性关系。

4.3 精密度试验

精密吸取浓度为0.0404mg \cdot mL⁻¹的标准品溶液10 μ L,重复进样6次,RSD为0.15%。

4.4 重复性试验

取批号为20070427的样品6份,按样品溶液

制备方法制备样品并分别测定豆腐果苷滴丸含量,RSD为1.16%。

4.5 稳定性试验

取批号为20070427的样品,按样品溶液制备方法制备样品,分别于0, 1, 3, 6, 9, 12, 24h进样,测定豆腐果苷滴丸的含量,结果表明供试品溶液在24h内无显著变化,RSD为0.26%。

4.6 准确度

精密称取已知含量为11.46%的豆腐果苷滴丸(批号为20070427)样品约0.2g共9份,分为3组,分别按样品含量的80%, 100%, 120%精密加入豆腐果苷对照品,照含量测定方法进行制备,各个浓度3份,以外标法计算测定加样回收率。平均回收率为100.74%,RSD为2.44%。测定结果见表1。

表1 准确度试验结果

样品取样量 (g)	供试品含量 (mg)	加入对照品量 (mg)	实测值 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.2225	25.50		44.68	98.87		
0.2178	24.96	19.40	44.94	102.99		
0.2165	24.81		44.56	101.80		
0.2133	24.44		47.96	96.99		
0.2191	25.11	24.25	50.44	104.45	100.74	2.44
0.2140	24.52		48.23	97.77		
0.2164	24.80		54.05	100.52		
0.2178	24.96	29.10	54.68	102.13		
0.2176	24.94		54.37	101.13		

5 样品含量测定

取批号为20050601, 20050605, 20050608的3批豆腐果苷滴丸各2份,按照“3.2”项下方法制备样品溶液,注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定,计算豆腐果苷含量,测定结果见表2。

表2 豆腐果苷滴丸样品测定结果

样品批号	样品含量 (%)		平均值 (%)	平均值 (mg/丸)
20050601	11.59	11.31	11.45	4.84
20050605	11.63	11.65	11.64	4.92
20050608	11.63	11.47	11.55	5.01

6 结果讨论

6.1 检测波长的确定

确定样品溶剂和流动相的组成后,在200~400nm波长范围内进行紫外扫描可见豆腐果苷的最大吸收波长为270nm,和文献一致^[3-5],故确定用270nm作为此方法的检测波长。

6.2 流动相考察

根据豆腐果苷性质,查阅的相关文献报道,考察了流动相A:乙腈-水(30:70);流动相B:乙腈-水(10:90);流动相C:乙腈-水-冰醋酸(10:89:1)的分离效果。

流动相A得到的色谱峰主峰保留时间较短,较为靠近溶剂峰,不利于豆腐果苷主峰的有效分离。流动相B色谱峰峰型有后拖尾现象,可通过适当的加入酸来改善。流动相C在流动相B的基础上加酸来调节峰形,结果峰形较好,且醋酸酸性较弱,对柱子的损坏不大,又能达到有效分离,因而选择流动相C为流动相。

6.3 溶剂考察

考虑到豆腐果苷易溶解于水的性质,选用水来提取豆腐果苷滴丸中的豆腐果苷,简单易行,只需超声处理。豆腐果苷滴丸的部分辅料不溶于水溶液,需过滤。取续滤液用流动相定容,经高效液相色谱法在同一条件下测定,结果表明,水作为样品提取溶剂,效果较佳。

6.4 超声时间考察

取豆腐果苷滴丸样品分别于20, 30, 60min条件下进行提取,分别测定含量,结果3种提取时间分离度、峰形、对称性均可行,因而提取时采用超声20min。

6.5 色谱柱考察

试验中对ZORBAX-XDB-C₁₈柱(4.6×150mm, 5μm); AgilentSB-C₁₈柱(4.6×250mm, 5μm)及AgilentXDB-C₁₈柱(4.6×250mm, 5μm)3种色谱柱进行了考察。3种柱子对豆腐果苷均达到有效分离。

6.6 柱温考察

试验中共选择了3个温度(25, 30, 40℃)进行考察,从供试品色谱峰中可看出温度对样品峰形,分离度及对称性影响不大。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 二部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 附录28.
- [2] 黄浩. 天舒滴丸中天麻素的含量测定[J]. 江苏药学与临床研究, 2005, 13(1): 29-30.
- [3] 四川省卫生厅. 昆明神衰果素(豆腐果苷). 四川省药品标准[M]. 1992: 196.
- [4] 国家药品监督管理局. 豆腐果素 WS-10001-(HD-0424)-2002.
- [5] 国家药品监督管理局. 豆腐果苷片 WS-10001-(HD-0072)-2002.

(编辑: 岳胜难)

Determination of Helicid in Helicid Dropping Pill by HPLC

LIU Bo, ZHU Zhao-yun, WANG Jing-kun, ZHAO Hong-wei
(Yunnan Institute of Materia Medica, Kunming Yunnan 650111, China)

[ABSTRACT] Objective: To establish a method for the determination Helicid in Helicid Dropping pill by HPLC. Method: Using Agilent SB-C₁₈ 4.6×250 mm, 5μm as analytic column, Acetonitrile-Watre-Acetic acid glacial (10:89:1) as the mobile phase, At a flow rate of 1.0ml·min⁻¹, The detection wavelength was 270nm. A column temperature 40℃. Result: The linearity of forsythin in the range of 0.1011μg-2.022μg was good ($r=0.99998$), The average recover is 100.74% and RSD is 2.44% ($n=9$), Conclusion: The method developed simple, rapid, accurate, sensitive and specific. It can be applied to the quality control of Helicid Dropping pill.

[KEY WORDS] HPLC; helicid dropping pill; determination