

高效液相色谱法测定复方枇杷喷托维林颗粒中枸橼酸喷托维林的含量

王发, 周志云, 刘雪峰, 罗世书

(陕西省食品药品检验所, 陕西 西安 710061)

摘要:目的 建立复方枇杷喷托维林颗粒中枸橼酸喷托维林含量的高效液相测定方法。方法 采用 Aglient C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相: 1% 三乙胺溶液 (用磷酸调 pH 至 3.0) - 乙腈 (70:30); 流速: 1.0 mL · min⁻¹; 检测波长: 210 nm。结果 枸橼酸喷托维林在 0.02 ~ 1.01 g · L⁻¹ 的质量浓度范围内线性关系良好, $Y = 6\,652\,832.11X - 8\,399.71$ ($r = 0.999\,9$), 平均加样回收率为 99.4%, RSD = 1.2%。结论 该法简便、准确, 可用于复方枇杷喷托维林颗粒中枸橼酸喷托维林的质量控制。

关键词: 高效液相色谱法; 复方枇杷喷托维林颗粒; 枸橼酸喷托维林

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2017.05.012

Simultaneous determination of pentoryverine citrate in Compound Loquat and Pentoryverine Granules by HPLC

WANG Fa, ZHOU Zhiyun, LIU Xuefeng, LUO Shishu

(Shaanxi Province Institute for Food and Drug Control, Xi'an, Shaanxi 710061, China)

Abstract: **Objective** To establish a HPLC method for the determination of pentoryverine citrate in Compound Loquat and Pentoryverine Granules. **Methods** The chromatographic conditions were as follows: Aglient C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) column was used. 1% triethylamine (pH 3.0) - acetonitrile (70:30) was used as mobile phase, and the flow rate was at 1.0 mL · min⁻¹. The detect wavelength was at 210 nm, the column temperature was 35 °C. **Results** The calibration curves were linearly in the range of 0.02-1.01 g · L⁻¹, the regression equation was $Y = 6\,652\,832.11X - 8\,399.71$ ($r = 0.999\,9$). The average recover was 99.4%. **Conclusion** The method was simple, accurate and can be used for quality control.

Key words: HPLC; Compound Loquat and Pentoryverine Granules; Pentoryverine citrate

复方枇杷喷托维林颗粒是由枇杷叶流浸膏、甘

草流浸膏、复方樟脑酊、薄荷脑、枸橼酸喷托维林及一些药用辅料组成的复方制剂, 临床用于呼吸道感染、支气管炎等引起的干咳或咳嗽少痰^[1]。方中主要化药成分枸橼酸喷托维林 (标示量 2 mg · g⁻¹) 为

基金项目: 国家药典委员会 2015 年标准提高研究项目 (104)

作者简介: 王发, 男, 副主任药师, 研究方向: 药品、食品的分析检验和药品质量标准提高, E-mail: wangf1974@126.com

参考文献

- [1] 王静, 吴贵华, 王杰. 水半夏及其易混淆品的鉴别[J]. 天津药学, 2016, 28(5): 30-33, 42.
- [2] 韩风华, 肖连玉, 陈宝江. 水半夏药材的研究进展[J]. 山东中医杂志, 2007, 26(4): 265-266.
- [3] 罗益远, 刘娟秀, 侯娅, 等. 何首乌不同产地及商品药材中无机元素的 ICP-MS 分析[J]. 中草药, 2015, 46(7): 1056-1064.
- [4] 罗益远, 刘娟秀, 刘训红, 等. ICP-MS 分析何首乌炮制前后无机元素差异[J]. 中国新药杂志, 2015, 24(8): 942-946, 953.
- [5] 周祖文. 影响中药微量元素的相关因素研究概况[J]. 微量元素与健康研究, 2002, 19(1): 66-68.
- [6] 于桂芳, 仲海洁, 胡军华, 等. 微波消解 ICP-MS 同时测定玛咖中 27 种元素[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(23): 4545-4551.
- [7] 吴建伟, 徐以亮. ICP-AES 测定羚羊感冒胶囊及羚羊角中 6 种有害微量元素的含量[J]. 安徽医药, 2013, 17(3): 404-405.
- [8] 陈钢, 谈献和, 张瑜. 江苏半夏无机元素的分析[J]. 南京中医药大学学报, 2012, 28(1): 41-43.
- [9] 陶冶, 张亚中. 电感耦合等离子体质谱法测定百部药材中砷、汞、铅的含量[J]. 安徽医药, 2015, 19(5): 858-861.
- [10] 国家药典委员会. 中国药典 (一部) [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.
- [11] 祁俊生, 徐辉碧, 周井炎, 等. 植物类中药中微量元素的因子分析和聚类分析[J]. 分析化学, 1998, 26(11): 1309-1314.
- [12] 宋爱华, 马翠荣, 王英淑. 微量元素与中医药的关系[J]. 微量元素与健康研究, 2010, 27(5): 69.

(收稿日期: 2016-12-26, 修回日期: 2017-01-09)

非成瘾性镇咳药,具有中枢和外周性镇咳作用。现行国家标准^[1]采用紫外分光光度法对制剂中枸橼酸喷托维林的量进行了控制,但存在:(1)对照品溶液和样品溶液浓度不一致(相差25倍),对照品溶液吸收度读数已经超出仪器范围,使用的pH=5的醋酸盐缓冲液和甲基橙溶液无具体配置方法,按原标准无法检测。(2)样品用水溶解后,用6 mL氯仿振荡提取,用滤纸滤过,由于滤纸吸附明显,需滤纸吸附平衡后再取续滤液测定,但样品量过少,导致结果重现性差。为解决以上问题,参考相关文献^[2-8],建立了复方枇杷喷托维林颗粒中枸橼酸喷托维林含量测定的高效液相色谱法(HPLC),方法学结果表明,本方法简便、准确,可更好的用于枸橼酸喷托维林的质量控制。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 高效液相色谱仪(日本岛津公司LC-30AD型,SPD-20A紫外检测器,Empower 2色谱工作站),XPE-105型电子分析天平(瑞士梅特勒公司),KQ-500DE型数控超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司)。

1.2 试剂 枸橼酸喷托维林对照品(中国药品生物制品检定研究院,批号100432-200702,含量98.7%);复方枇杷喷托维林颗粒(江西赣南海欣药业股份有限公司提供,批号:15012203、15121001、15121002);试剂:磷酸(国药集团化学试剂有限公司)分析纯,三乙胺和乙腈(美国天地公司)均为色谱纯,水为高纯水。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液 精密称取枸橼酸喷托维林对照品51.08 mg,置于50 mL量瓶中,用水溶解并稀释至刻度,摇匀,作为枸橼酸喷托维林对照品储备液。再精密量取对照品储备液5 mL,置25 mL容量瓶中,用水稀释到刻度,摇匀,即得。

2.1.2 供试品溶液 取供试品5 g,精密称定,置50 mL容量瓶中,加入水40 mL,超声使溶解,冷却至室温后用水稀释到刻度,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.1.3 阴性样品溶液 按处方比例制备不含枸橼酸喷托维林的阴性样品,按“2.1.2”项下方法制备相应的阴性样品溶液。

2.2 方法学考察结果

2.2.1 色谱条件 色谱柱:Agilent C₁₈(150 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:1%三乙胺溶液(用磷酸调pH至3.0)-乙腈(70:30);检测波长:210 nm;流速:

1.0 mL · min⁻¹;柱温为35 ℃;进样量:20 μL。

2.2.2 专属性试验 分别取对照品溶液、供试品溶液和阴性样品溶液,按上述色谱条件测定,结果表明,在该色谱条件下,枸橼酸喷托维林峰形良好,辅料及其他成分对枸橼酸喷托维林的含量测定无干扰。色谱图见图1。

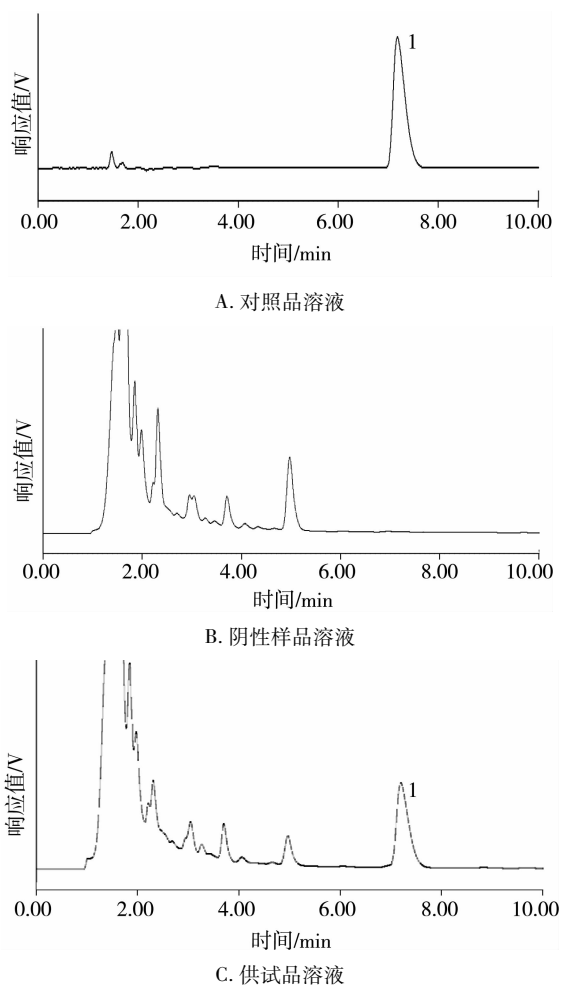


图1 HPLC 色谱图(1. 枸橼酸喷托维林)

2.2.3 线性与范围 精密量取对照品储备液适量,用水逐步稀释,得到如下系列浓度的对照品溶液:0.02、0.04、0.10、0.20、0.50、1.01 g · L⁻¹。精密量取上述溶液各20 μL注入液相色谱仪进行测定,以枸橼酸喷托维林峰面积Y对相应质量浓度X进行线性回归,得枸橼酸喷托维林线性方程为:Y = 6 652 832.11X - 8 399.71 (r = 0.999 9),线性范围为:0.02 ~ 1.01 g · L⁻¹。

2.2.4 定量限和检测限 取“2.2.3”项下浓度为0.02 g · L⁻¹的对照品溶液,用水逐步稀释,按上述色谱条件进行检测,记录色谱图。以信噪比为10:1时的对照品溶液浓度为定量限,枸橼酸喷托维林的浓度为0.005 0 g · L⁻¹。以信噪比约为3:1时对照

品溶液浓度为检测限,枸橼酸喷托维林的浓度 $0.002\ 0\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.2.5 精密度试验 取对照品溶液,连续进样6次,枸橼酸喷托维林峰面积的平均值为1 323 447.36, $\text{RSD}=0.1\%$ 。

2.2.6 重复性试验 取供试品(批号:15121001),按供试品溶液制备方法配制6份,按上述色谱条件进样测定,枸橼酸喷托维林含量均值为标示量的99.9%, $\text{RSD}=1.5\%$ 。

2.2.7 稳定性试验 取供试品溶液,分别于0、1、4、8、10和12 h各进样20 μL ,记录色谱图,结果枸橼酸喷托维林峰面积的平均值为1 265 365.21, $\text{RSD}=0.8\%$ 。试验表明,供试品溶液在12 h内稳定。

2.2.8 回收率试验 取供试品(批号:15121001),精密称定9份,每份约3 g,置50 mL容量瓶中,分别加入对照品储备液各2.0、4.0、6.0 mL,按“2.1.2”项下配制方法制备供试品溶液,进样测定,计算回收率。结果枸橼酸喷托维林的回收率为99.4%, $\text{RSD}=1.2\%$ 。结果见表1。

表1 加样回收率试验结果($n=9$)

序号	称样量/g	样品中量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%
1	3.007 7	6.010 0	2.016 6	7.995 0	98.43
2	3.004 8	6.004 2	2.016 6	7.960 0	96.99
3	3.001 0	5.996 6	2.016 6	8.020 0	100.34
4	3.000 7	5.996 0	4.033 3	10.045 0	100.39
5	3.006 1	6.006 8	4.033 3	9.990 0	98.76
6	3.004 0	6.002 6	4.033 3	10.030 0	99.86
7	3.008 1	6.010 8	6.049 9	12.090 0	100.49
8	3.005 5	6.005 6	6.049 9	12.030 0	99.58
9	3.002 6	5.999 8	6.049 9	12.035 0	99.76

2.2.9 耐用性试验 取供试品(批号:15121001),按供试品溶液配制方法制备样品,分别用Agilent C_{18} (150 mm $\times$ 4.6 mm,5 μm)柱和Kromasil C_{18} (250 mm $\times$ 4.6 mm,5 μm)柱进行含量测定,试验表明供试品溶液在上述色谱柱上分离效果均良好,枸橼酸喷托维林峰理论塔板数均在3 500以上,含量测定结果 $\text{RSD}=0.3\%$ 。

2.3 含量测定结果 取供试品(批号:15012203、15121001、1512002),按供试品溶液配制方法制备样品,分别测定,并与原标准方法测得的结果进行比较,结果表明两法无显著性差异(见表2)。

表2 供试品含量测定结果比较/%

批号	HPLC法	原标准方法
15012203	101.2	102.0
15121001	99.9	99.0
15121002	100.3	101.8

3 讨论

3.1 样品溶解液的选择 枸橼酸喷托维林在水中易溶,本研究曾试验比较了文献中使用的水-甲醇(1:1)、1%三乙胺溶液($\text{pH}=3.0$)-甲醇(45:55)和水,试验结果表明,三者的提取回收率基本一致,因此选择以水作为提取溶剂。

3.2 色谱条件的选择 称取枸橼酸喷托维林对照品适量,分别以水、水-甲醇(1:1)、1%三乙胺溶液($\text{pH}=3.0$)-甲醇(45:55)为溶剂,配置浓度为 $0.20\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品溶液,在200~400 nm的范围内扫描,结果均在末端有较强吸收。因此选择检测波长为210 nm(比215 nm波长检测响应值提高1.25倍),同时选择乙腈而非甲醇作为有机相,是因为乙腈在此范围没有紫外吸收,从而可以获得更低的背景噪音,可以进一步提高方法的检测限。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 国家药品标准化学药品地方标准上升国家标准第十二册[S].
- [2] 国家药典委员会. 中国药典(二部)[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:731-732.
- [3] 李霞,柳小秦,王红英,等. 复方枸橼酸喷托维林颗粒中枸橼酸喷托维林的含量测定[J]. 西北药学杂志,2015,30(2):145-146.
- [4] 童龙标. 高效液相色谱法测定枸橼酸喷托维林片含量[J]. 医药导报,2011,30(3):375-376.
- [5] 秦立,肖英,陈诗慧,等. HPLC法测定枸橼酸喷托维林片含量的测量不确定度评定[J]. 中国药师,2014,17(3):505-507.
- [6] 袁华峰. 愈创维林那敏片中枸橼酸喷托维林的含量测定[J]. 中国药业,2009,18(1):19-20.
- [7] 赵霓,李宁. HPLC法测定枸橼新啉片中枸橼酸喷托维林和盐酸溴己新含量[J]. 西北药学杂志,2011,26(4):255-257.
- [8] 史艳玲,李振华,朱亚楠,等. 高效液相色谱法测定复方虎杖颗粒中盐酸小檗碱含量[J]. 安徽医药,2016,20(6):1072-1074.

(收稿日期:2016-09-04,修回日期:2016-09-26)