

高效液相色谱法测定牛黄消炎片中酯蟾毒配基的含量

纪 玲 (哈尔滨市药品检验所 150076)

王清华 (黑龙江省药品检验所) 丛保忠 (哈尔滨铁路中心医院)

摘 要 应用高效液相色谱法,对中成药牛黄消炎片中蟾酥的主要成分酯蟾毒配基进行了含量测定。所测酯蟾毒配基的回收率是 100.2%,*RSD* 为 1.42%,线性范围是 0.12~0.72mg/ml,相关系数为 0.9998。

关键词 牛黄消炎片 酯蟾毒配基 高效液相色谱法

Determination of Recibufogenin in Niuhang Xiaoyan Tablet by HPLC

Ji Ling(Harbi Institute for Drug Control,Harbin, 150076)

Wang Qinghua(Heilongjiang Provincial Institute for Drug Control)

Cong Baozhong(Harbin Central Hospital of Railway)

Abstract: The content of the major component recibufogenin in Niuhuang Xiaoyan tablet was determined by HPLC with Alltima-C₁₈ column. The average recovery was 100.2% with RSD=1.42%. The linear range was form 0.12 to 0.72mg/ml($r=0.9998$).

Key words: Niuhuang Xiaoyan tablet, recibufogenin, HPLC

牛黄消炎片是由牛黄、蟾酥等 7 味中药材组成的中药复方片剂。具有清热解毒、消肿止痛的功效。临床上用于治疗咽喉肿痛、疔、痈、疮疖各症,具有较好的疗效,而且服用量小,深受广大患者的欢迎。本品收载于卫生部药品标准中药成方制剂第七册中。

酯蟾毒配基是蟾酥中的主要成分。本文采用高效液相色谱法测定牛黄消炎片中酯蟾毒配基的含量,效果较满意,为进一步控制牛黄消炎片的质量,提供了实验依据。

1 仪器、试剂及样品

1.1 仪器 美国光谱物理公司 SP2000 高效液相色谱仪,UV2000 紫外可见分光光度检测器,SP4600 型积分仪。

1.2 试剂及样品 甲醇、冰醋酸均为分析纯,北京化工厂。酯蟾毒配基对照品,中国药品生物制品检定所提供。牛黄消炎片,哈尔滨世一堂药厂生产。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

2.1.1 测定波长的选择 取酯蟾毒配基对照品适量,用甲醇溶解,于紫外区测定光谱图

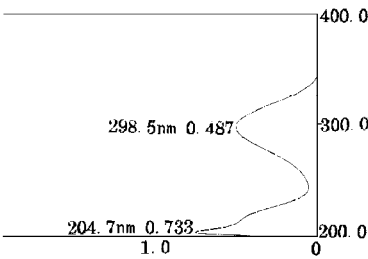


图 1 酯蟾毒配基的紫外光谱图

(见图 1),在 298nm 波长处有最大吸收,故以此波长为检测波长。

2.1.2 色谱条件 色谱柱 Alltima-C₁₈ 柱 (4.6 × 250) mm,流速 1ml/min,灵敏度 0.032AUFS,检测波长 298nm,流动相甲醇-水-冰醋酸(65 : 35 : 1)。分离效果较好且蟾酥空白样品无干扰(见图 2)。

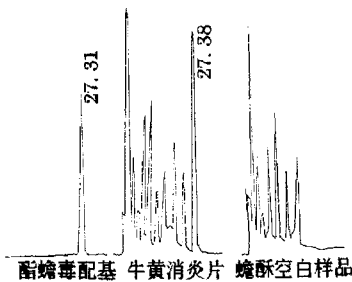


图 2 高效液相色谱图

2.2 线性关系的测定 精密称定干燥至恒重的酯蟾毒配基对照品适量,用甲醇溶解,制成每 1ml 中含 0.06mg 的对照品溶液。精密吸取 4、6、8、10、12、14ml 分别置 25ml 量瓶中,用甲醇稀释至刻度。在上述色谱条件下分别精密进样 25μl,测得积分值,进行直线回归计算,方程 $Y=2.8199 \times 10^{-7}x+5.5070 \times 10^{-3}$,酯蟾毒配基进样量在 0.12~0.72μg 范围内,线性关系良好, $r=0.9998$ 。

2.3 精密度试验 精密吸取酯蟾毒配基对照品(0.06mg/ml)溶液 5μl,按上述色谱条件重复进样 5 次,结果表明本方法精密度良好。见表 1。

表 1 精密度试验结果					
序号	1	2	3	4	5
积分值	1673694	1658439	1597645	1628418	1635192
$\bar{x}$	1638678		RSD%	1.78	

2.4 重现性试验 取同一批号牛黄消炎片,用本文方法操作,测定 5 次,结果表明本方法重现性良好。见表 2。

表 2 重现性试验结果

序号	1	2	3	4	5	RSD%
含量(mg/片)	0.076	0.075	0.078	0.074	0.076	0.15

2.5 稳定性试验 取同一供试溶液,每隔 2h 测定 1 次,结果表明在 8h 之内测定即可。见表 3。

表 3 稳定性试验结果

测定时间(h)	0	2	4	6	8	RSD%
积分值($\times 10^6$)	3.9706	3.9293	3.9543	3.9664	3.9876	2.8

2.6 回收率试验 精密称取酯蟾毒配基对照品加入到已知含量的样品中,按样品测定项下方法测定,计算回收率,结果见表 4。

表 4 回收率测定结果

序号	1	2	3	4	5
样品含量(mg/10ml)	0.152	0.155	0.203	0.210	0.198
对照品加入量(mg/10ml)	0.242	0.242	0.242	0.242	0.242
测得量(mg/10ml)	0.390	0.401	0.448	0.450	0.442
回收率(%)	98.35	101.65	101.24	99.17	100.83
平均回收率	100.25	RSD%		1.42	

2.7 样品含量测定 ①对照品溶液的制备 精密称取酯蟾毒配基对照品适量,用甲醇溶解制成每 1ml 含 0.4mg 的溶液,做为对照品溶液。②样品溶液的制备 取牛黄消炎片 30 片,研细,精密称定,置索氏提取器中,加氯

仿适量连续回流提取 5h,回收氯仿,残渣用甲醇溶解,滤于 10ml 量瓶中,用甲醇洗涤容器及滤纸,并稀释至刻度,摇匀,做为供试品溶液。

分别精密吸取对照品溶液及供试品溶液各 10 μ l,注入高效液相色谱仪,测定峰面积积分值,外标法计算,即得。见表 5。

表 5 样品含量测定结果($n=3$)

批号	含量(mg/片)			平均值	RSD%
1	0.075	0.076	0.078	0.076	2.0
2	0.056	0.056	0.057	0.056	1.0
3	0.062	0.061	0.059	0.061	2.5

3 讨论

3.1 曾经采用 60% 甲醇做流动相,结果保留时间较长。改为 65% 甲醇后,虽然缩短了保留时间,但同时也降低了分离度。加入冰醋酸后,既使保留时间缩短,又提高了分离度。

3.2 采用本方法能够快速测定牛黄消炎片中蟾酥的主要成分酯蟾毒配基的含量,可作为控制产品质量的指标,有利于提高牛黄消炎片的质量。

3.3 本实验采用的含量测定方法,到目前尚未见有报道。

(收稿:1997-03-18)