

通宣理肺丸中苦杏仁苷的 HPLC 测定

★ 陈丽华¹ 魏惠珍² 饶毅² 朱卫丰¹ (1 江西中医学院 南昌 330006; 2 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心 南昌 330006)

关键词:通宣理肺丸;苦杏仁苷;HPLC

中图分类号:R 284.1 文献标识码:A

通宣理肺丸收载于《中国药典》(2005 版),由紫苏叶、前胡、桔梗、苦杏仁、麻黄、甘草、陈皮、半夏(制)、茯苓、枳壳(炒)、黄芩等 11 味药材组成,具有解表散寒、宣肺止咳作用,用于感冒咳嗽、发热恶寒、鼻塞流涕、头痛无汗、肢体酸痛。苦杏仁苷为其主要有效成分之一,经酶水解后产生微量氢氰酸,能抑制中枢神经而起镇咳平喘作用。本文探讨了通宣理肺丸中苦杏仁苷的含量测定方法。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(LC-10ATyp, SPD-M10AVP 检测器, SIL-10AD 自动进样器, Class-vp 工作站, 日本岛津公司);超声波机;离心机。

苦杏仁苷对照品(由中国药品生物制品检定所提供),通宣理肺丸为市售 3 种商品制剂(6.0 g/丸),甲醇、乙腈为色谱纯,其它试剂均为分析纯试剂,水为 Millipore 超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适应性

色谱柱:Hypersil ODS C₁₈(5 μm, 250 mm×4.6 mm);流动相:甲醇-乙腈(25:5)-水-14:86;检测波长:210 nm;流速:1.0 mL/min;柱温:40 ℃;进样量:10 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取苦杏仁苷对照品 5.5 mg,加甲醇溶解,定容至 2 mL,摇匀,即得苦杏仁苷对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取 3 种市售通宣理肺丸各 6 丸研磨混匀,精密称取 2.0 g,置具塞 25 mL 锥形瓶中,加石油醚 20 mL 超声提取 30 分钟后,弃去石油醚,残渣用甲醇 20 mL 超声提取 30 分钟,离心,滤过,收集滤液,用甲醇定容至 25 mL,摇匀。

2.2.3 阴性对照液的制备 按处方量制备缺苦杏仁药材的通宣理肺丸样品,依照“2.3”项下制备阴性对照液。

2.3 空白试验

精密吸取苦杏仁苷对照品溶液、供试品溶液、阴性对照液各 10 μL,分别注入液相色谱仪,在“2.1”色谱条件下测定,记录色谱图。在通宣理肺丸供试品色谱图中,与对照品色谱图相应位置($t_R = 19.64$ min)上,确认了苦杏仁苷吸收峰,而阴性对照液色谱图无苦杏仁苷的色谱峰,故认为无干扰。

2.4 线性关系

将上述苦杏仁苷对照品溶液稀释成不同系列浓度的对照溶液,在上述色谱条件下分别进样测定,以进样量(μL)为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)绘制标准曲线,回归方程为: $Y = -2.184 3X + 13.163$, $r = 0.999 9$ ($n = 5$),线性范围:0.12~11.0 μg。

2.5 精密度试验

精密称取通宣理肺丸 2.0 g,按“2.2.2”项下制备供试液,按上述色谱条件连续测定 6 次,计算苦杏仁苷含量,所得 $RSD = 1.1\%$ 。

2.6 重现性试验

取“2.2.2”项下通宣理肺丸制剂供试液制备 6 份,进样测定,计算苦杏仁苷含量,所得 $RSD = 1.6\%$ 。

2.7 稳定性试验

取“2.5”项下通宣理肺丸制剂供试液于配制后 0、2、4、8、12 小时进样,按上述色谱条件测定苦杏仁苷峰面积, $RSD = 2.0\%$,表明苦杏仁苷含量在 12 小时内是稳定的。

2.8 回收率试验

采用加样回收法,精密称取已知含量的通宣理肺丸粉末 3 份,精密加入苦杏仁苷对照液适量,按“2.2.2”项下制备供试液,每份依法测定 3 次,计算得平均回收率为 98.41%, $RSD = 2.7\%$ 。

2.9 样品测定

取通宣理肺丸各供试溶液 10 μL,采用上述 HPLC 测定苦杏仁苷含量。结果见表 1。

表 1 通宣理肺丸中苦杏仁苷的含量测定结果 mg·丸⁻¹

样品	A	B	C
1	9.27	7.45	5.06
2	9.36	7.58	4.94
3	9.08	7.73	4.96
平均苦杏仁苷含量	9.24	7.59	4.99
RSD(%)	1.55	1.85	1.29

注:A、B、C 为来自不同厂家生产的产品。

3 讨论

(1)在实验过程中,考察了通宣理肺丸中苦杏仁苷的索氏提取法、回流提取法和超声提取法等各种提取方法,结果表明用石油醚脱脂,选择甲醇作为提取溶剂超声法提取效果较好,比较了超声 15、30、60 分钟提取能力,结果表明以超声 30 分钟提取效率最高,且操作简便。

(2)本实验考察了不同比例的甲醇-水、乙腈-水、甲醇-乙腈-水及甲醇-乙腈-水-冰醋酸为流动相时苦杏仁苷在制剂中的分离效果。最终确定以甲醇-乙腈(25:5)-水(14:86)进行分析,苦杏仁苷与相邻峰达到基线分离,保留时间适宜。

(3)苦杏仁苷不稳定,遇水在苦杏仁酶在酸性条件下会分解成氢氰酸和苯甲醛,导致其在通宣理肺丸中含量减少。氢氰酸具有抑制中枢神经系统的作用,过量时会出现中毒现象。因此,严格控制通宣理肺丸中苦杏仁苷的含量具有一定的意义。

(收稿日期:2005-06-09)