

对照品贮备液 0.8, 1.0, 1.2 mL, 每个浓度 3 份, 加入乙醇至 50 mL, 按“2.2”项下供试品溶液制备方法制备溶液并依法测定。结果见表 1。

表 1 加样回收率测定结果(n=9)

Tab 1 Result of sample recovery test(n=9)

取样量/ g	样品含量 /mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
0.701 2	1.262 2	1.034	2.294 1	99.80		
0.702 8	1.265 0	1.034	2.295 3	99.64		
0.704 1	1.267 4	1.034	2.295 1	99.39		
0.700 9	1.261 6	1.293	2.540 1	98.88		
0.701 8	1.263 2	1.293	2.540 0	98.75	98.48	1.15
0.702 3	1.264 1	1.293	2.539 2	98.62		
0.705 1	1.269 2	1.552	2.774 1	96.97		
0.703 4	1.266 1	1.552	2.773 4	97.12		
0.702 7	1.264 9	1.552	2.772 1	97.11		

2.4 样品含量测定

取 3 批(批号分别为 110704, 110503, 110604) 样品, 按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定, 以外标法计算含量(n=3), 结果 3 批样品中盐酸水苏碱平均含量分别为 1.80, 1.78, 1.88 mg·g⁻¹。

3 讨论

HPLC 具有精密度高、重复性好的优点。但盐酸水苏碱最大吸收波长为 192.4 nm^[1], 如果用紫外-可见光检测器, 流动相的溶剂末端吸收会带来较大的干扰。蒸发光散射检测器是一种通用型质量检测器, 能检测任何挥发性低于流动相的化合物,

特别是无特征紫外吸收或紫外末端吸收的物质^[2], 故本实验采用蒸发光散射检测器。

盐酸水苏碱是属于强极性的酸碱两性小分子化合物, 一般反相色谱柱上分离效果不佳, 很难在常用的 C₁₈ 柱中保留, 因此不适合用常规的生物碱 HPLC 分析条件进行分析。故本实验改用丙基酰胺键合硅胶柱进行盐酸水苏碱的分析。

实验发现, 直接以乙醇提取测定, 盐酸水苏碱峰附近有杂质峰干扰。提取步骤增加过柱净化后, 所得的样品色谱图中盐酸水苏碱峰与杂质峰分离效果佳。

中国药典 2010 年版对益母草颗粒中盐酸水苏碱的含量采用薄层扫描法进行测定^[3]。该方法操作繁琐, 检测灵敏度低, 重复性不佳, 误差较大。本实验采用 HPLC-ELSD 测定结果准确, 重复性好、专属性强, 可有效地控制该制剂的内在质量。

REFERENCES

- [1] JIANG S Y. HPLC analysis of stachydrine in *Leonurus japonicus* [J]. *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 2001, 21(4): 243-306.
- [2] HUANG Q M, CAO Z Q, DING M G. Determination of notoginsenoside R1, ginsenoside Rg1 in Xinkeshu capsule by HPLC-ELSD [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2011, 28(8): 770-773.
- [3] Ch.P(2010)Vol I (中国药典 2010 年版. 一部) [S]. 2010: 1026.

收稿日期: 2012-03-18

HPLC 测定热熔压敏胶贴剂中 α -细辛醚的含量

王石健¹, 俞振伟² (1.台州市立医院, 浙江 台州 318000; 2.浙江大学医学院附属邵逸夫医院, 杭州 310016)

摘要:目的 建立 HPLC 测定热熔压敏胶贴剂中 α -细辛醚含量的方法。方法 以甲苯为萃取溶剂提取药物, 采用 ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μ m), 以甲醇-水(55:45)为流动相, 流速: 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长: 311 nm, 柱温: 40 $^{\circ}$ C。结果 α -细辛醚在 8.032~18.07 μ g·mL⁻¹ 内线性关系良好($r=0.9999$), 回收率为 99.3%(RSD=0.99%), 供试品溶液在室温下 48 h 内稳定。结论 本方法操作简单, 结果准确, 可用于热熔压敏胶贴剂中 α -细辛醚的含量测定。

关键词: α -细辛醚; 热熔压敏胶; 贴剂; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2013)01-0191-03

Determination of α -Asarone in Hot Melt Pressure Sensitive Adhesive Patches by HPLC

WANG Shijian¹, YU Zhenwei² (1.Taizhou Municipal Hospital, Taizhou 318000, China; 2.Sir Run Run Shaw Hospital, College of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310016, China)

作者简介: 王石健, 男, 主管药师 Tel: (0576)88858266 E-mail: wsjtz@yahoo.cn

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method for determination of α -asarone in hot melt pressure sensitive adhesive patches. **METHODS** Toluene was used as the exacted solvent. The column was ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈(150 mm × 4.6 mm, 5 μ m). The mobile phase was methanol-water (55 : 45) and the flow rate was 1 mL·min⁻¹. The detection wave length was 311 nm. The column temperature was kept at 40 °C. **RESULTS** A good linearity was obtained in a range of 8.032–18.07 μ g·mL⁻¹ ($r=0.9999$), and the recovery was 99.3%(RSD=0.99%). The solution was stable within 48 h under room temperature. **CONCLUSION** The method is simple and accurate, and is suitable for the determination of α -asarone in hot melt pressure sensitive adhesive patches.

KEY WORDS: α -asarone; hot melt pressure sensitive adhesive; patch; HPLC

贴剂采用的压敏胶通常以溶剂型为主, 污染环境且能量消耗大^[1]。热熔压敏胶是用于制备贴剂的一种新型的压敏胶, 不使用溶剂, 具有环境友好的特点, 近年来逐渐受到关注^[2]。 α -细辛醚(α -asarone)又名 α -细辛脑或细辛脑, 是中药石菖蒲挥发油中的主要有效成分之一, 对慢性气管炎、支气管哮喘和癫痫大发作均有较好疗效^[3], 但是其口服生物利用度低^[4]。将 α -细辛醚制成热熔压敏胶贴剂后, 生物利用度显著提高^[5]。目前, 国内外对热熔压敏胶贴剂的质量研究报道较少。本实验建立了 HPLC 测定热熔压敏胶贴剂中 α -细辛醚的含量, 操作简便, 专属性强, 重复性好, 为热熔压敏胶贴剂的质量控制提供了参考。

1 仪器和试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司)。 α -细辛醚对照品(武汉远城科技发展有限公司, 批号 081002, 纯度: 99.7%); α -细辛醚的热熔压敏胶贴剂(自制, 面积 10 cm², 含 α -细辛醚 1.5 mg·cm⁻², 批号: 110701, 110702, 110703); 甲醇为色谱纯; 其余试剂均为分析纯; 水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μ m)。流动相: 甲醇-水(55 : 45), 流速: 1 mL·min⁻¹, 柱温: 40 °C, 检测波长: 311 nm, 进样量: 20 μ L, 外标法定量。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取 α -细辛醚对照品 15.06 mg, 用甲苯-甲醇(40 : 60)溶解并定容至 50 mL, 作为对照品储备液。精密量取 1.0 mL, 用甲醇稀释至 25 mL, 即得对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取样品贴剂 1 张, 揭去防黏层, 置于烧杯中, 加入甲苯 10 mL, 充分震荡使压敏胶层溶解。取出背衬层, 用 10 mL 甲苯冲洗。合并冲洗液, 转移至 50 mL 量瓶中, 用甲

醇定容至刻度。精密量取溶液 1.0 mL, 用甲醇定容至 25 mL, 0.45 μ m 微孔滤膜过滤, 取续滤液作为供试品溶液。

2.2.3 空白辅料溶液的制备 称取贴剂处方量的各辅料, 置于烧杯中, 按“2.2.2”项下方法处理, 得空白辅料溶液。

2.3 方法学确证

2.3.1 专属性试验 分别取对照品溶液、供试品溶液和空白辅料溶液, 按“2.1”项下色谱条件检测, 记录色谱图, 见图 1。 α -细辛醚的保留时间约为 25 min; 供试品溶液在相应的保留时间处有 α -细辛醚色谱峰出现, 而空白辅料溶液在相应保留时间处无色谱峰出现。辅料峰与主峰分离度>1.5, 表明制剂中的辅料对 α -细辛醚的测定不产生干扰, 方法专属性好。

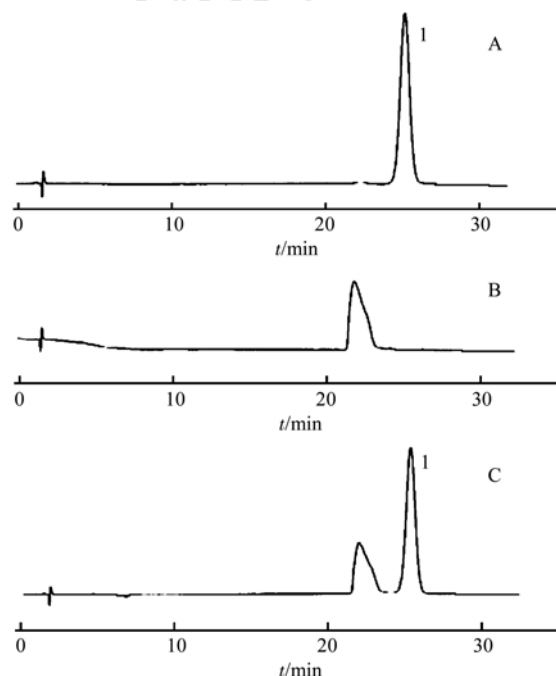


图 1 高效液相色谱图

A-对照品; B-空白辅料; C-供试品; 1- α -细辛醚

Fig 1 HPLC chromatograms

A-control; B-negative sample; C-sample; 1- α -asarone

2.3.2 线性关系、最低定量限和最低检测限 使用对照品储备液一次稀释成浓度为 8.032, 10.04, 12.05, 14.46, 18.07 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的系列标准溶液, 分别取 20 μL 进样, 记录色谱图。以峰面积 A 对浓度 C 作回归得: $A=43.35C+2.489(r=0.9999, n=5)$ 。结果表明, α -细辛醚在 8.032~18.07 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好。

取对照品溶液, 逐步稀释进样, 直至 $S/N=10$, 最低定量限为 0.2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; 继续逐步稀释进样, 直至 $S/N=3$, 最低检测限为 0.06 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.3.3 日内精密度与日间精密度 精密量取对照品溶液, 配制成高、中、低(120%, 100%, 80%)浓度的溶液, 分别在同一日内连续进样 5 次, 每次 20 μL , 记录色谱图, 测定峰面积, 结果日内 RSD 分别为 0.88%, 0.45%和 0.63%; 连续 5 日进样, 测定峰面积, 日间 RSD 分别为 0.32%, 0.62%, 0.70%。本方法精密度良好。

2.3.4 重复性试验 取本品适量(批号为 110701), 分别制备成供试品溶液 6 份, 按照“2.1”项下色谱条件测定含量。RSD 为 1.44%, 说明本法重复性良好。

2.3.5 回收率试验 精密称取 α -细辛醚对照品适量, 与空白辅料混合成浓度为 80%, 100%, 120% 的样品, 每个浓度配制 3 份(共 9 份), 按照“2.2.2”项下方法操作, 测定回收率, 结果见表 1。

表 1 回收率试验

Tab 1 Result of recovery

加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
12.05	11.89	98.67		
11.94	11.75	98.41		
12.21	12.27	100.49		
14.88	14.60	98.12		
15.24	15.22	99.84	99.3	0.99
15.21	14.98	98.45		
18.18	18.06	99.35		
18.21	18.07	99.23		
18.21	18.38	100.96		

2.3.6 稳定性试验 取同一批供试品溶液, 分别在 0, 2, 4, 8, 24, 32, 48 h 进样, 测定 α -细辛醚峰面积, 结果表明, 峰面积没有明显变化, RSD 为 0.99%。结果表明供试品溶液在 48 h 内稳定。

2.4 样品含量测定

取 3 批热熔压敏胶贴剂, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, HPLC 测定药物含量, 外标法进行定量, 结果见表 2。

表 2 α -细辛醚热熔压敏胶贴剂含量的测定结果($n=6$)

Tab 2 Determination of α -asarone in hot melt pressure sensitive adhesive patches ($n=6$)

批号	标示含量/%	RSD/%
110701	101.92	1.47
110702	96.39	1.25
110703	96.56	1.26

3 讨论

α -细辛醚在 257 nm 与 311 nm 处有峰值吸收, 且 257 nm 处吸收较强。但是本研究发现在 257 nm 处辅料对 α -细辛醚有较大的干扰, 故选择 311 nm 作为检测波长。 α -细辛醚能从热熔压敏胶中以较快的速度释放出来, 但是不能达到完全释放。常规的提取方法不能满足回收率的要求。且热熔压敏胶不溶于氯仿、甲醇等溶剂, 故本研究使用甲苯溶解热熔压敏胶, 再使用甲醇进行稀释, 结果辅料干扰较少, α -细辛醚的回收率符合要求。

REFERENCES

- [1] ZBIGNIEW C, MARTA W. Development of solvent-free acrylic pressure-sensitive adhesives [J]. Eur Polym J, 2007, 43(8): 3604-3612.
- [2] WANG C X, TANG X Z, SHEN P N, et al. Advances in studies on hot melt pressure sensitive adhesive applied in patches of Chinese materia medica [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2010, 41(3): 496-499.
- [3] ZHAO L H, WU J M, WU F L. A review of recent ten-year study on α -asarone [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2007, 32(7): 562-565.
- [4] YANG Z H, WU C. Absolute bioavailability of synthetic asarone in healthy volunteers [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 1997, 17(4): 165-167
- [5] YU Z W, LIANG W Q. HPLC with fluorescence determination of relative bioavailability of hot melt pressure sensitive adhesive α -asarone patch [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2011, 31(8): 1444-1447.

收稿日期: 2012-05-08