

• 论著 •

高效液相色谱法测定耳聋通窍丸中栀子苷的含量

韩伟亭, 孙海涛, 吴艳丽, 耿 玮

(吉林省食品药品检验所, 吉林长春 130031)

【摘要】 目的 建立耳聋通窍丸的质量标准。方法 采用高效液相色谱法, Diamonsil (BDS) C₁₈ 柱, 流动相为: 甲醇-水 (25/75), 检测波长为 238nm。结果 本法线性范围为 0.100 4~0.903 6μg, $r=0.999\ 97$; 平均回收率为 99.1%, $RSD\%=1.44\%$ 。结论 方法简便可靠, 重复性好, 可用于耳聋通窍丸的质量控制。

【关键词】 耳聋通窍丸 栀子苷; HPLC

【中图分类号】 R917

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-7555[2007]01-0012-03

HPLC Determination of ErlongTongQiao Pills

HAN Wei-ting, SUN Hai-tao

(Materia Medica Inspection Institute of Jilin Province, Changchun 130062, China)

【Abstract】 Objective To establish the assay method of geniposide in ErlongTongQiao pills. **Methods** HPLC conditions were as follow: Diamonsil BDS C₁₈ Column, the mobile phase was methanol-water (25/75) the detection wavelength was 238nm. **Results** The method was linear within the range of 0.100 4~0.903 6μg with a correlation coefficient of 0.99997. The average recovery was 99.1%, RSD was 1.44%. **Conclusion** The method was simple realizable and reproducible, it can be used for quality control of ErlongTongQiao pills.

【Key words】 ErlongTong qiao; Pillsgeniposide; HPLC

耳聋通窍丸是由龙胆、黄柏、大黄、栀子(姜制)、石菖蒲、当归、芦荟、黄芩、黄连、磁石(煨)、木香、路路通 12 位药组成的制剂。我们选栀子中的栀子苷作为含量测定指标, 采用高效液相色谱法对耳聋通窍丸中栀子进行了含量测定, 操作简便、准确、重现性好。现将结果报告如下:

1 方法

1.1 仪器及试剂 岛津 LC-2010C 高效液相色谱仪; 栀子苷对照品, 由中国药品生物制品检定所提供 (批号: 0749-200007, 规格为含量测定用); 甲醇为色谱纯; 其他试剂均为分析纯。

1.2 色谱条件 用十八烷基硅烷键合硅胶为填料; 色谱柱: 迪马 BDS C₁₈ (250×4.6mm, 5μm); 流动相: 甲醇-水 (25/75); 流速: 0.8ml/min; 柱温: 30℃; 检测波长: 238nm。理论板数按栀子苷峰计算应不低于 2 500。

1.3 对照品溶液的制备 精密称取栀子苷对照品适量, 加甲醇制成每毫升中含 50μg 的溶液作为对照品溶液。

1.4 供试品溶液的制备 取本品细粉约 1g, 加甲醇 50ml, 密塞, 称定重量, 超声处理 30min, 冷却, 称定重量, 用甲醇补足减失重量, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2 方法学考察

2.1 含量测定指标的选择 试验分别对耳聋通窍丸、龙胆中的龙胆苦苷、黄柏及黄莲中的盐酸小檗碱、大黄中的大黄素、大黄酚、黄芩中的黄芩苷、栀子中的栀子苷进行了色谱分离^[1]。实验表明龙胆在相应的流动相系统下没有色谱峰出现, 盐酸小檗碱色谱峰的响应值太小, 大黄素、大黄酚以及黄芩苷的色谱峰附近杂质峰干扰严重, 结果选择了栀子中的栀子苷作为含量测量指标。

2.2 系统适用性试验 按正文方法测定, 得到栀子苷对照品和样品色谱图 (见图 1、2), 测得其理论板数按栀子苷峰计算 $N=3\ 032$ 。在此条件下, 栀子苷峰附近没有杂质峰干扰, 得到很好的分离, 参考中国药典 2000 年版一部栀子项下有关规定, 确定其理论板数按栀子苷峰计算, 不得低于 2 500。

2.3 测定波长的选择 取栀子苷对照品的甲醇溶液, 经 UV-265 紫外可见分光光度计, 在波长 300~400nm 范围内测定, 栀子苷在 238nm 波长有最大吸收 (见图 3), 参照中国药典 2000 年版一部栀子项下有关规定 (测定波长为 238nm), 故规定测定波长为 238nm。

2.4 流动相的选择 试验比较了三种流动相的比例: ①甲醇-水 (20/80); ②甲醇-水 (30/70); ③甲

醇-水(25: 75)。结果表明, 流动相 ① 栀子苷峰保留时间太长; 流动相 ② 栀子苷峰与其前面杂峰分不开; 流动相 ③ 栀子苷峰与其前面杂峰分离较好, 故选择流动相甲醇-水(25: 75)。

2.5 阴性对照试验 为进一步考察实验设计的合理性, 取不含栀子的阴性样品, 依正文方法测定, 结果所得色谱图中, 在与栀子苷色谱峰相应的保留时间附近无色谱峰检出, 从而进一步证明本法是合理可行的(见图 4)。

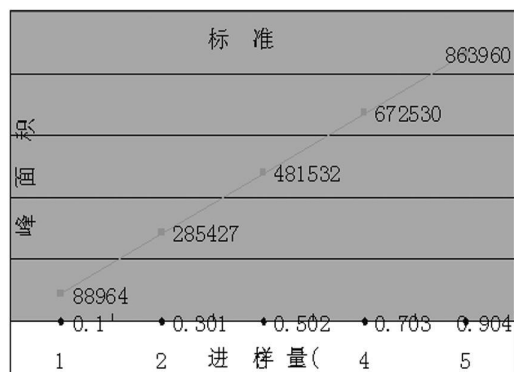


图 1 对照品进样量与色谱面积关系图

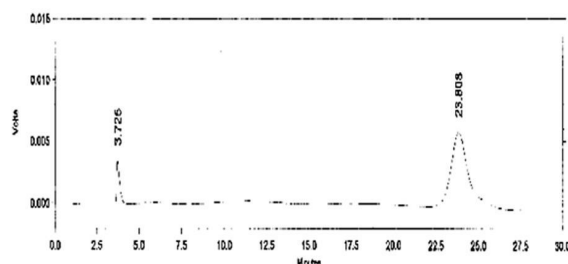


图 2 栀子苷对照品色谱图

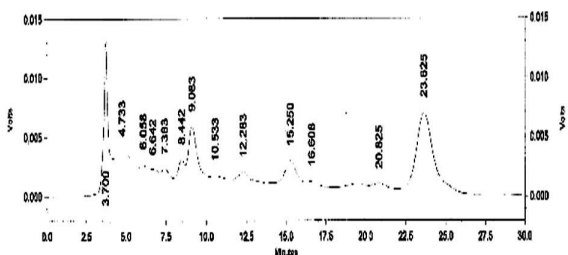


图 3 栀子苷样品色谱图

2.6 标准曲线的制备 精密称取栀子苷对照品适量, 加甲醇制成每 1ml 含 0.050 2mg 的溶液, 分别精密吸取 2μl、6μl、10μl、14μl、18μl 注入液相色谱仪, 测定, 以对照品的进样量(μg) 为横坐标, 色谱峰面积值为纵坐标, 作图(见图 1), 得一近通过原点的直线。得回归方程: $Y = 964302X + 5674$, $r = 0.99997$ 。

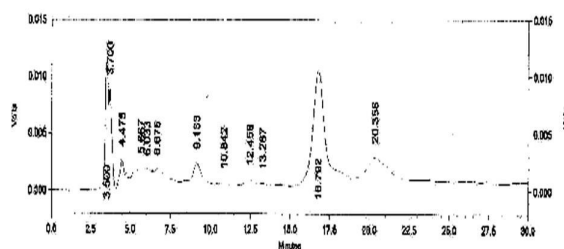


图 4 栀子阴性样品色谱图

2.7 精密度试验 精密吸取本品供试品溶液 10μl, 注入液相色谱仪, 重复进样 5 次, 测定其峰面积值, 结果见表 1。RSD% = 0.5%。

表 1 精密度试验结果

NO.	1	2	3	4	5
Area	480 351	483 817	484 936	485 976	485 827

2.8 稳定性试验 取同一供试品溶液, 每隔一定时间按正文色谱条件测定, 结果见表 2。结果表明, 在 24h 内供试品溶液中栀子苷的含量基本稳定。

表 2 稳定性试验结果

时间(h)	0	4	8	16	24
Area	496 045	493 279	493 358	497 815	496 427

RSD = 0.4%

2.9 重现性试验 取同一批供试品, 依正文方法独立测定 5 次, 结果见表 3。结果表明, 本法重现性良好。

表 3 重现性试验结果

NO.	1	2	3	4	5
含量(mg/g)	2.47	2.46	2.46	2.47	2.44

2.10 回收率试验 精密称取同法测定已知含量的供试品(批号: 0749-200007) 5 份, 分别精密加入栀子苷对照品适量, 依法测定, 计算回收率, 结果详见表 4。本法栀子苷平均回收率为 99.1%, 而 RSD 为 0.3%, 表明本法回收率较高, 准确度好。

2.11 样品测定结果 依正文方法测定 10 批样品, 结果见表 5。

表 4 栀子苷回收率试验结果

试验号	称样量(g)	样品(mg)	加入量(mg)	测得总量(mg)	回收率(%)
1	0.503 3	1.24	1.27	2.504	99.7
2	0.483 1	1.19	1.17	2.347	99.0
3	0.480 6	1.18	1.14	2.312	99.1
4	0.476 9	1.17	1.12	2.281	98.9
5	0.475 2	1.17	1.13	2.286	98.9

3 3 批投料药材的含量测定

按中国药典 2000 年版一部栀子苷项下含量测定方法^[2], 测定 3 批投料用栀子的含量, 结果见表 6。

3 批栀子中栀子苷的含量均符合药典规定。

表 5 10 批样品含量测定结果

批号	测得值(mg/g)		平均值(mg/g)
	(一)	(二)	
1	2.42	2.42	2.42
2	2.54	2.49	2.52
3	2.34	2.29	2.32
4	2.48	2.47	2.48
5	2.69	2.69	2.69
6	2.71	2.71	2.71
7	2.52	2.55	2.54
8	2.33	2.37	2.35
9	2.27	2.32	2.30
10	2.28	2.25	2.26

表 6 3 批投料用栀子的栀子苷含量测定结果

序号	产地	含量(%)
1	厂家提供	18.2
2	厂家提供	18.4
3	厂家提供	18.2

4 含量限度的确定

通过对 10 批样品含量的测定可知, 平均含量

2.46mg/g, 药材含量均符合中国药典 2000 年版一部栀子项下含量测定的规定, 考虑到原料药材本身含量的变化及生产中的波动, 以平均值的 85% 为限度, 即暂定本品每克含栀子苷不得少于 2.0mg。

5 小结

试验比较了大连伊利特 C₁₈ 和迪马 BDSC₁₈ (250mm × 4.6mm, 5μm)。结果在流动相一致的情况下, 栀子苷在迪马 BDSC₁₈ 柱上分离效果较好, 故选择 BDSC₁₈ 柱为色谱柱。

参考文献

[1] 龙琳, 张昀, 黄顺菊. HPLC 测定舒肝宁注射液中含黄芩苷含量[J]. 中成药, 2003, 25(12): 1025.
[2] 龙琳, 张昀, 黄顺菊. HPLC 测定舒肝宁注射液中含栀子苷含量[J]. 中成药, 2003, 25(10): 852.

• 病例报告 •

气管、支气管巨大症 1 例报告

庞磊, 崔有斌, 连鑫, 许力军, 姜羲, 余欣
(吉林大学第一医院, 吉林长春 130021)

【关键词】 气管; 支气管; 巨大症
【中图分类号】 R562 【文献标识码】 B

【文章编号】 1673-7555[2007]01-0014-02

1 病历摘要

患者男, 54 岁。有 30 年咳嗽及咯痰病史, 反复发作, 逐渐加重, 近几个月出现活动后的胸闷、气短, 加重 20 d。既往 30 年吸烟史, 40 支/d。查体: 肺气肿体征, 桶状胸, 肋间隙增宽, 双肺呼吸运动度减弱, 触觉语颤减弱, 叩诊双肺过清音, 可闻及干湿罗音。肺部 CT 示双肺上叶、下叶, 右肺中叶均见片状、条索状高密度影, 边界模糊(图 1)。气管、支气管管腔明显扩张变形, 气管直径大于 3.0 cm, 管壁变薄, 双肺透光度增强(图 2)。病人行支气管镜检查后出现喉部不适, 发出喉鸣声, 呼气性呼吸困难。肺部 CT 及支气管镜检查结果支持双肺炎、气管—支气管巨大症、慢性喘息型支气管炎急性发作期、慢性阻塞性肺气肿诊断。病人气管及支气管扩张, 考虑先天性可能性大, 追问病史, 其父亲也患有此病。考虑为先天遗传因素所致。病人支气管镜检查示气管及支气管扩张。考虑双肺炎、慢性喘息型支气管炎、慢性阻塞性肺气肿、气管—支气管巨大症诊断成立。临床

诊断: 双肺炎, 巨大支气管症, 慢性喘息型支气管炎急性发作期, 慢性阻塞性肺气肿。

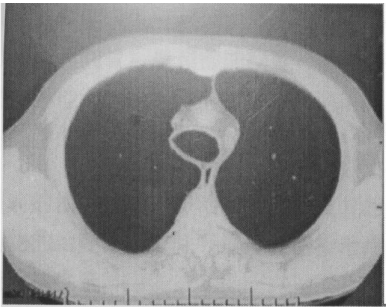


图 1 双肺 CT 表现

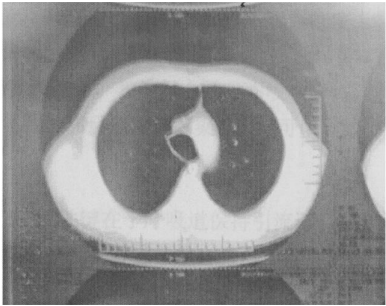


图 2 气管支气管管腔 CT 表现

通讯作者 崔有斌, 主任医师, 教授, 医学博士, 硕士生导师,