

不同牛蒡子中牛蒡苷的鉴别及含量考察

陈黎¹ 周晓萌² 张秀华¹ 张幼林¹ 王启斌¹ (1. 湖北医药学院附属太和医院药学部 湖北十堰 442000; 2. 十堰市中医院药学部)

摘要 目的: 采用薄层色谱法和高效液相色谱法对牛蒡子、炒牛蒡子及其免煎剂中主要成分牛蒡苷进行鉴别及含量测定。方法: 鉴别采用 TLC 法, 含量测定采用 HPLC 法。色谱柱: Diamonsil C₁₈ 柱 (200 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (1: 1.1); 柱温: 30 ℃; 流速: 1 ml·min⁻¹; 检测波长 280 nm。结果: TLC 图谱显示, 斑点清晰。含量测定方法学考察结果, 平均回收率为 97.56%, RSD 为 1.41% (n=6)。牛蒡子生品与炮制品中牛蒡苷的含量均符合药典限度要求, 免煎剂中牛蒡苷含量仅为炮制品中的 1/3。结论: 该实验方法简便、准确、专属性强, 可用于牛蒡子及其制剂的质量控制; 牛蒡子免煎剂的生产提取工艺有待于进一步完善。

关键词 牛蒡子; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 牛蒡苷

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1008-049X(2011)01-0063-03

Identification and Content Determination of Arctiin in Fructus Arctii

Chen Li¹, Zhou Xiaomeng², Zhang Xiuhua¹, Zhang Youlin¹, Wang Qibin¹ (1. Department of Pharmacy, Affiliated Taihe Hospital of Hubei Medical College, Hubei Shiyan 442000, China; 2. Department of Pharmacy, Traditional Chinese Medicine Hospital of Shiyan City)

ABSTRACT Objective: To determine the content of arctiin in Fructus Arctii, fried and free decoction medicine by TLC and HPLC. **Method:** The arctiin in Fructus Arctii was identified by TLC and the content of arctiin in Fructus Arctii was determined by HPLC. Chromatographic conditions: the chromatographic column was Diamonsil C₁₈ (200 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol-water (1: 1.1), the column temperature was 30 ℃, the flow rate was 1 ml·min⁻¹, and the detection wavelength was 280 nm. **Result:** The TLC spots were clear, the content determination was reliable, and the average recovery was 97.56% (RSD = 1.41%). The content of arctiin in Fructus Arctii and its processed products were all accorded with the requirements of the Chinese Pharmacopoeia. The content of arctiin in free decoction medicine was only 1/3 as high as that in processed products of Fructus Arctii. **Conclusion:** The method is simple, accurate and suitable for the quality control of Fructus Arctii and its preparations. The extraction technology of Fructus Arctii granule needs to be further improved.

KEY WORDS Fructus Arctii; TLC; HPLC; Arctiin

牛蒡子为菊科植物牛蒡 (*Arctium lappa* L.) 的干燥成熟果实^[1]。具有疏散风热, 宣肺透疹, 解毒利咽之功效, 多用于风热感冒, 咳嗽痰多, 麻疹, 风疹, 咽喉肿痛, 疔疮丹毒, 痈肿疮毒等症^[2,3]。本文对牛蒡子、炒牛蒡子及其免煎剂中牛蒡苷的含量进行了分析, 为药品监督部门监控市场上销售牛蒡子的质量提供了依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

戴安 UltiMate TM3000 型高效液相色谱仪, 包括四元梯

度泵、自动进样器、柱温箱、紫外检测器、变色龙 (chromeleon) 软件数据处理系统; 岛津 AUW120D 分析天平 (日本岛津公司); UP5200HE 超声波清洗器 (熊猫集团南京电子计量有限公司)。

1.2 试剂

牛蒡苷对照品 (批号: 110819-200505, 供含量测定用, 中国药品生物制品检定所)。牛蒡子药材来源见表 1, 均系市场采购, 经十堰市药品检验所孟黎明主任药师鉴定为菊科植物牛蒡 (*Arctium lappa* L.) 的干燥成熟果实。甲醇为色谱纯,

通讯作者: 王启斌 Tel: (0719) 8801157 E-mail: taihe321@163.com

水做为对照溶液的溶剂。

3.4 控制 β-内酰胺抗生素中聚合物的含量是减少临床中过敏反应的有效措施。目前《中国药典》2010 年版采用的质控方法仍以 Sephadex G10 凝胶色谱系统为主, 但这一系统在检验实践中也存在着柱效低、分离效果差等缺点。同时由 Sephadex G10 凝胶色谱的分离机制可知, 本方法的专属性也较差。已经有大量实验证明头孢菌素开环物也在主峰前出峰。因此, 采用 HPLC 分析方法, 利用指针性杂质控制 β-内酰胺抗生素聚合物的含量, 将在未来的药品质量控制中成为主流^[2]。在没有杂质对照品的情况下, 利用柱切换技术实现

凝胶色谱峰在反相色谱系统中的定位, 辅之于 LC-MS 鉴别是头孢克肟聚合物杂质分析进一步的研究方向。

参考文献

- 1 胡昌勤. 抗菌药中高分子杂质的特性及抗菌药过敏反应 (上) [J]. 中国药师, 2006, 9(3): 238-241
- 2 胡昌勤. β-内酰胺抗生素聚合物分析技术的展望 [J]. 中国新药杂志, 2008, 17(24): 2098-2102
- 3 中国药典 [S]. 2010 年版. 二部. 附录, 37-38, 403-404 (2010-08-06 收稿 2010-10-12 修回)

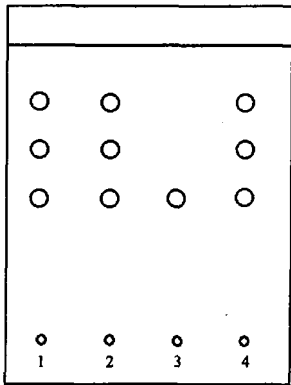
水为纯化水,其他试剂均为分析纯。

表 1 牛蒡子来源及编号							
名称	编号	产地	批号	名称	编号	产地	批号
牛蒡子	1	四川	080306	牛蒡子	7	河南	070701
	2	南阳	080218		1	亳州	070706
	3	湖北	071108	炒牛蒡子	2	湖北	080401
	4	湖北	060620		3	陕西	071014
	5	湖北	070501	免煎剂	1	三九	0906221
	6	湖北	080501				

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

取牛蒡子生品及炮制品粉末 0.5 g(免煎剂取样 0.05 g,相当于牛蒡子药材 0.5 g),加乙醇 20 ml,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加乙醇 2 ml 使溶解,作为供试品溶液。另取牛蒡苷对照品,加乙醇制成每 1 ml 含 5 mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法试验,吸取供试品溶液 5 μl、对照品溶液 5 μl,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-甲醇-水(40:8:1)为展开剂,展开,取出,晾干,检视。浸入 20% H₂SO₄ 溶液^[4],快速取出,晾干后于 105 ℃ 烘箱中加热至斑点显色清晰。如图 1。



1. 牛蒡子生品 2. 炒牛蒡子
3. 牛蒡苷对照品 4. 牛蒡子免煎剂

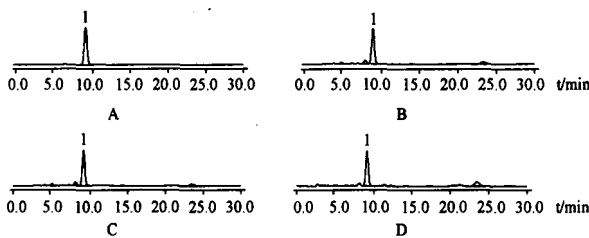
图 1 TLC 图

2.2 含量测定

采用 HPLC 法^[5]对牛蒡子中牛蒡苷含量进行测定。

- 2.2.1 色谱条件 色谱柱:Diamonsil C₁₈柱(200 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇-水(1:1.1);柱温:30 ℃;流速:1 ml·min⁻¹;检测波长为 280 nm^[6]。理论板数按牛蒡苷计算应不低于 1 500。
- 2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取在五氧化二磷干燥器中减压干燥 24 h 的牛蒡苷对照品 32.5 mg 于 25 ml 量瓶中,用甲醇溶解,并稀释至刻度,即得对照品储备液。
- 2.2.3 供试品溶液的制备 取样品粉末(过三号筛)0.5 g,精密称定,置 50 ml 量瓶中,加甲醇约 45 ml,超声处理(500 W,40 kHz)20 min,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。
- 2.2.4 系统适应性试验 分别吸取对照品溶液,供试品溶液各 10 μl,注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定(见图 2)。按牛蒡苷峰计算,理论板数在 1 500 以上,在上述色谱

条件下,其他成分对牛蒡苷的测定无干扰,牛蒡苷峰达到基线分离。



A. 牛蒡苷对照品 B. 牛蒡子生品 C. 炒牛蒡子
D. 牛蒡子免煎剂 1. 牛蒡苷

图 2 HPLC 色谱图

- 2.2.5 线性范围的考察 分别精密量取牛蒡苷对照品溶液(1.3 mg·ml⁻¹)各 1.0,2.0,4.0,5.0,7.0 ml 置于 10 ml 量瓶中,用甲醇定容后,摇匀,得到浓度为 0.13,0.26,0.52,0.65,0.91 mg·ml⁻¹的牛蒡苷对照品溶液。精密吸取 10 μl 注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定峰面积,以浓度(X)对峰面积(Y)进行线性回归,得到回归方程:Y=79.067X+0.056,r=0.999 9;牛蒡苷在 0.13~0.91 mg·ml⁻¹浓度范围内线性关系良好。
- 2.2.6 精密度试验 取牛蒡苷对照品溶液 10 μl,按上述色谱条件,重复进样 5 次,其相对保留时间稳定,记录峰面积,计算 RSD=0.41%(n=5),说明仪器精密度良好。
- 2.2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液(批号:080401),按上述色谱条件分别在 0,2,4,6,8,12 h 测定,其峰面积 RSD 为 0.61%,结果说明供试品溶液在 12 h 内稳定。
- 2.2.8 重复性试验 称取同一批号炒牛蒡子(批号:080401),精密称取 5 份,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,分别进样 10 μl,测定牛蒡苷的峰面积,RSD 为 1.65%(n=5)。
- 2.2.9 加样回收率试验 取已知含量的同一批号供试品 0.5 g(批号:080401,牛蒡苷含量:8.66%),精密称定 6 份,分别精密加入牛蒡苷对照品 0.52 mg,按供试品溶液制备方法制备供试品溶液,进样 10 μl,测牛蒡苷的峰面积,计算牛蒡苷含量,结果平均回收率为 97.56%,RSD 为 1.41%(n=6)。
- 2.2.10 样品含量测定 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μl,注入液相色谱仪,测定,即得。结果见表 2。

表 2 含量测定结果

名称	编号	含量(%)	名称	编号	含量(%)
牛蒡子	1	5.16	牛蒡子	7	6.76
	2	5.73		1	8.80
	3	5.81	炒牛蒡子	2	8.28
	4	7.04		3	8.90
	5	6.75	免煎剂	1	2.39
	6	6.50			

3 讨论

3.1 在检验的 10 批不同产地的牛蒡子生品与炮制品中,牛蒡苷的含量均在 5% 以上,符合《中国药典》牛蒡子项下含量

HPLC 法测定小儿消积止咳口服液 中槟榔碱的含量

康四和 周锐 聂晶 (湖北省食品药品监督管理局 武汉 430064)

摘要 目的: 建立 HPLC 法测定小儿消积止咳口服液中槟榔碱含量的方法。方法: 色谱柱:Cosmosil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-0.1% 磷酸溶液 (每 1 000 ml 含十二烷基磺酸钠 1.0 g) (48:52), 检测波长:215 nm。结果: 氢溴酸槟榔碱对照品在 0.100~2.008 μg 范围内呈良好的线性关系, $r=0.9999$; 回收率为 99.7%, $RSD=2.63\%$ 。结论: 该法简便、测定准确、分离效果好, 能较好的评价该品种的质量。

关键词 高效液相色谱法; 小儿消积止咳口服液; 槟榔碱

中图分类号:R927.2 文献标识码:A 文章编号:1008-049X(2011)01-0065-02

Determination of Arecoline in Xiaoji Zhike Oral Liquids for Children by HPLC

Kang Sihe, Zhou Rui, Nie Jing (Hubei Institute for Food and Drug Control, Wuhan 430064, China)

ABSTRACT Objective: To establish the determination method of arecoline in xiaoji zhike oral liquids for children by HPLC. **Method:** The HPLC method was performed for the determination on Cosmosil C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), with methanol-0.1% H₃PO₄ (containing SDS 1.0 g per 1 000 ml) (48:52) as mobile phase and detection wavelength of 215 nm. **Result:** The arecoline had promising liner relationship between 0.100-2.008 μg, and the average recovery was 99.7% with RSD of 2.63%. **Conclusion:** The method is simple, accurate and can be used for the quality control.

KEY WORDS HPLC; Xiaoji zhike oral liquids for children; Arecoline

小儿消积止咳口服液由山楂、槟榔、枳实、枇杷叶等药味组成, 具有清热理肺、消积止咳等作用, 为山东某药业有限公司独家生产小儿用药, 原标准采用 HPLC 法测定枳实中辛弗林的含量作为定量指标, 由于不同产地、不同生长期枳实中辛弗林含量差距较大^[1], 仅以辛弗林的含量作为定量指标难以控制该品种质量。槟榔为本品种中主要组成之一, 据文献^[2]报道, 槟榔中所含槟榔碱具有兴奋胆碱受体的作用, 使胃肠平滑肌张力升高, 增强肠蠕动, 使消化液分泌旺盛, 增加食欲, 是槟榔中的特征性及主要活性成分。本文建立了 HPLC 法测定小儿消积止咳口服液中槟榔碱的含量, 为有效控制该品种质量提供依据, 报道如下。

1 仪器与试剂

Agilent-1100 高效液相色谱仪; Cosmosil C₁₈ 液相色谱柱

(250 mm×4.6 mm, 5 μm); UV-3000 紫外分光光度计 (美国通用); 氢溴酸槟榔碱对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号: 111684-200401); 甲醇为色谱纯, 水为重蒸水; 其他试剂为分析纯; 小儿消积止咳口服液 (山东某药业有限公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Cosmosil C₁₈ 液相色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.1% 磷酸溶液 (每 1 000 ml 含十二烷基磺酸钠 1.0 g) (48:52); 检测波长:215 nm; 流速:1 ml·min⁻¹; 柱温:35℃。

2.2 测定波长的选择

取氢溴酸槟榔碱对照品对照品适量, 加水溶解, 在紫外分光光度仪上于 200~400 nm 波长范围内扫描, 结果氢溴酸

通讯作者:康四和 Tel:(027)87272513 E-mail:shkyjs@163.com

限度, 并且炮制品的含量均高于生品, 说明炮制方法对药材中主要成分的含量有一定影响, 市场销售牛蒡子的质量较佳。

3.2 在对牛蒡子饮片和免煎剂进行含量比较时发现, 同等条件下的牛蒡子免煎剂中所含有效成分牛蒡苷的含量仅为炮制品中的 1/3, 说明现市售免煎剂的生产提取工艺有待进一步改进和完善, 以使其充分发挥最大药用价值。

3.3 采用高效液相色谱法测定牛蒡子药材中的有效成分牛蒡苷的含量, 分离度良好, 方法简便, 灵敏, 取得满意效果, 可用于其药材的质量控制。

参 考 文 献

- 1 任常胜, 朱庆玲. 牛蒡子的研究概况 [J]. 中国民族医药杂志, 2003, 12:36
- 2 卫生部药品标准 [S]. 中药成方制剂. 第 12 册. 2005. 327
- 3 江苏新医学院. 中药大辞典 (上册) [M]. 上海: 上海人民出版社, 1997. 429-430
- 4 张涛. 牛蒡子不同炮制品中牛蒡苷含量的 HPLC 测定 [J]. 中草药, 2004, 35(4):50-51
- 5 中国药典 [S]. 2005 年版. 一部. 48
- 6 王青. 高效液相法测定贞安颗粒中牛蒡子苷含量 [J]. 中国药师, 2010, 13(6):889-890

(2010-07-23 收稿 2010-09-26 修回)