

2.3 供试品溶液的制备

取本品10片,精密称定,研细,取约2g(相当于7片),精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入70%甲醇25ml,密塞,称定重量,超声处理(300 W, 25 kHz)^[1]30 min,放冷,再称定重量,用70%甲醇^[2]补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.4 阴性样品溶液

按处方比例及工艺制备缺榭寄生的阴性样品,按“2.3”项下方法制备阴性样品溶液,分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性供试品溶液20 μl,按照上述色谱条件进样,记录色谱图,见图1,表明在本试验条件下,处方中其他成分与紫丁香苷分离度良好,阴性供试品溶液在与对照品峰相应处未出现色谱峰。

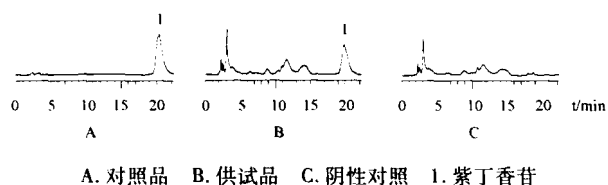


图1 HPLC 色谱图

2.5 线性关系考察

精密吸取对照品储备液2,4,6,8,10 ml,分别置25 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,分别进样20 μl,按上述色谱条件测定峰面积,以进样量(μg)为横坐标,以峰面积积分值为纵坐标,进行回归分析,得到回归方程: $Y = 2.49 \times 10^6 X - 4.18 \times 10^3$, $r = 0.9999$,结果表明紫丁香苷在0.163~0.813 μg的范围内呈良好的线性关系。

2.6 精密度试验

精密吸取对照品溶液(0.025 4 mg·ml⁻¹) 20 μl,连续进样5次,记录峰面积,其峰面积RSD=0.28% (n=5),表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

取供试品溶液(批号:091008),每隔2 h,进样1次,进样量20 μl,重复进样5次,记录峰面积,结果5次进样紫丁香

苷峰面积RSD=0.41% (n=5),表明供试品溶液在8 h稳定。

2.8 重复性试验

取批号为091008的样品,按“2.3”项下方法制备5份供试品溶液,测定含量,平均含量为每片0.184 mg, RSD=0.84% (n=5)。

2.9 加样回收率试验

精密称取已知含量的同一批号(批号:091008,含量0.501 3 mg·g⁻¹)的样品约1 g,分别精密加入紫丁香苷对照品溶液(0.025 4 mg·ml⁻¹)10 ml,按供试品溶液的制备方法制备及上述色谱条件测定,计算回收率,结果平均回收率为99.81%, RSD为0.9% (n=6)。

2.10 样品含量测定

精密吸取紫丁香苷对照品溶液与供试品溶液(批号:091008,091111,101008)20 μl,按上述色谱条件测定,记录峰面积,以外标法计算样品中紫丁香苷含量分别为每片0.184,0.211,0.204 mg。

3 讨论

取样品超声处理10,20,30,40 min,舒筋活血片中紫丁香苷含量分别为:1.26,1.29,1.37,1.28 mg·g⁻¹。结果表明:超声处理30 min紫丁香苷基本提取完全。

舒筋活血片收载于部颁标准,无含量测定项目,不能有效反映制剂质量,而榭寄生作为方中主药之一,具有祛风湿,补肝肾,强筋骨的功效,主治风湿痹痛,腰膝酸痛,而紫丁香苷为榭寄生的有效成分,故本文对紫丁香苷进行定量分析,以完善该中药制剂的内在质量控制标准,确保患者的用药安全。

参 考 文 献

- 1 中国药典[S]. 2010年版.一部.350
- 2 吴高芬,张禹. 高效液相色谱法测定救心胶囊中紫丁香苷的含量[J]. 中国药师,2010,13(8):1202-1203

(2011-06-03 收稿 2011-07-29 修回)

HPLC 法测定小儿感冒宁颗粒中牛蒡苷的含量

刘志刚^{1,2} 罗佳波¹ 谭晓梅¹ (1. 南方医科大学中医药学院 广州 510515; 2. 华润三九医药股份有限公司)

摘 要 目的: 建立测定小儿感冒宁颗粒中牛蒡苷含量的高效液相色谱法。方法: 采用 Dikma diamonsil C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈-水(25:75), 流速: 1.0 ml·min⁻¹, 检测波长: 280 nm。结果: 牛蒡苷在 0.558~11.156 μg 范围内($r = 0.9997$)线性关系良好, 平均回收率为 96.2% (RSD=0.7%)。结论: 该方法简便、灵敏、准确, 可用于该制剂的质量控制。

关键词 小儿感冒宁颗粒; 牛蒡苷; 高效液相色谱法

中图分类号: R927.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-049X(2011)11-1701-02

小儿感冒宁颗粒是由牛蒡子、黄芩、薄荷、荆芥穗、苦杏仁、桔梗、前胡、白芷、炒栀子、焦山楂、六神曲(焦)、焦麦芽、

通讯作者: 刘志刚 Tel: (0755) 83360999-3848 E-mail: liuzhigang@999.com.cn

芦根、金银花、连翘等 15 味中药制成的复方制剂,具有疏散风热,清热止咳之功效,主要用于小儿感冒发烧,汗出不爽,鼻塞流涕,咳嗽咽痛等症。处方中牛蒡子具有疏散风热,宣肺透疹,解毒利咽等功效^[1],为主要的药效成分。为有效控制小儿感冒宁颗粒质量,本文选择牛蒡苷为含量测定指标并加以控制,建立小儿感冒宁颗粒中牛蒡苷 HPLC 含量测定方法,以作为本品质量控制指标之一。

1 仪器与试剂

Waters 2695 高效液相色谱仪,Empower 工作站。牛蒡苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号:110781-200311),小儿感冒宁颗粒(华润三九医药股份有限公司,批号:091026、091028、091030),乙腈为色谱纯,甲醇为分析纯,水为去离子水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Dikma diamondsil C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈-水(25:75);流速:1 ml·min⁻¹;柱温:室温;检测波长:280 nm;进样量:10 μl。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取牛蒡苷对照品适量,加甲醇制成每 1 ml 含牛蒡苷 0.25 mg 的溶液,即得。

2.3 供试品溶液的制备

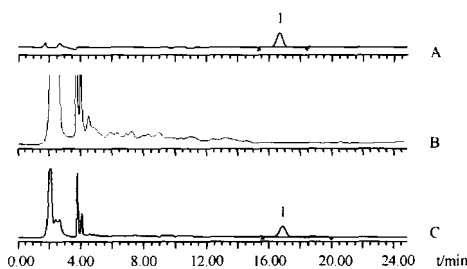
取装量差异下的本品约 2 g,研细,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 ml,密塞,称定重量,超声处理(250 W,40 kHz)20 min,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过。精密量取续滤液 10 ml,蒸干,加水 20 ml 温热使溶解,转移至分液漏斗中,放冷,加乙醚-氯仿(3:1)溶液 30 ml 振摇提取,分取水层,蒸干,残渣加甲醇适量使溶解,并转移至 10 ml 量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,即得。

2.4 阴性样品溶液的制备

按处方及制法,制成缺牛蒡子药材的阴性样品。取相当于供试品的量,按“2.3”项下方法制成阴性样品溶液。

2.5 干扰试验

取对照品溶液、供试品溶液和阴性样品溶液按上述色谱条件进样。结果表明,阴性样品溶液对供试品中牛蒡苷的测定无干扰,牛蒡苷的保留时间为 16 min 左右。见图 1。



A. 对照品 B. 阴性样品 C. 供试品 1. 牛蒡苷

图 1 HPLC 色谱图

2.6 线性关系考察

取牛蒡苷对照品溶液(0.278 91 mg·ml⁻¹),分别进样 2,

5,10,20,40 μl,注入液相色谱仪。以对照品的进样量(X)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标进行回归,线性方程为:Y=5.78×10⁵X+6.71×10⁴,r=0.999 7。结果表明,牛蒡苷在 0.558~11.156 μg 范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验

取对照品溶液,连续进样 6 次,每次 10 μl,记录牛蒡苷峰面积,结果表明峰面积的 RSD=0.5%,表明仪器的精密度良好。

2.6 稳定性试验

取供试品溶液,分别于 0,2,5,12,24 h 进样,测定牛蒡苷峰面积的 RSD=0.5%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性,均可进行测定。

2.7 重复性试验

取同一批号样品(批号:091026)样品 6 份,按“2.3”项下制备成供试品溶液,进行测定,牛蒡苷平均含量为 6.77 mg·g⁻¹,RSD=0.3%,表明方法可行,重复性良好。

2.8 加样回收率试验

精密称取已测定含量的同一样品(批号:为 091026,牛蒡苷含量:6.77 mg·g⁻¹),平行 6 份,每份 1 g,用移液枪分别精密加入牛蒡苷对照品溶液(9.297 mg·ml⁻¹)720 μl,按含量测定方法测定,计算得牛蒡苷的平均回收率 96.2%,RSD=0.7%(n=6)。

2.9 样品测定结果

取不同批号颗粒,制成供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进行测定。见表 1。

表 1 样品测定结果(n=2)

批号	牛蒡苷含量(mg/袋)
091026	16.9
091028	17.1
091030	16.7

3 讨论

3.1 由于本品工艺过程中加入薄荷、荆芥穗的挥发油,采用甲醇制备供试品溶液的过程中,脂溶性较强的挥发油成分同时被提出;在反相色谱中,由于脂溶性成分相对强保留,造成色谱分析时间较长,影响色谱的稳定性,也不利于色谱柱的保养。经试验,可采用乙醚-氯仿(3:1)溶液萃取方法,去除脂溶较强成分的干扰,方法简便且回收率高,并有效缩短分析时间,保证色谱的稳定性。

3.2 笔者参照《中国药典》2010 年版一部^[1]中牛蒡子含量测定中所用的流动相:甲醇-水(1:1.1),以及文献^[2]报道,采用乙腈-水(25:75)作为流动相。试验结果表明,本方法简便、快速、准确,可用于小儿感冒宁颗粒的质量控制。

参 考 文 献

- 1 中国药典[S].2010 年版.一部.66-67
- 2 杨志一,王汉平.HPLC 法测定小儿清咽颗粒中牛蒡苷的含量[J].中国药师,2006,9(1):44-45

(2011-06-08 收稿 2011-07-25 修回)