

行了测定, 每批平行测定 2 次, 结果样品 1 平均含量 4 473 5 mg 样品 2 平均含量 4 351 8 mg 样品 3 平均含量 5 192 0 mg, 3 批供试品的含量在每袋 4 35~5 19 mg

3 讨论

通过对提取溶媒和提取时间的考察, 结果表明以 30% 乙醇超声处理 30 min 效果最好。笔者曾以甲醇-0.025 mol·L⁻¹ 磷酸溶液 (20:80)^[2] 和甲醇-水 (21:79) 等^[3-4] 为流动相进行实验研究, 结果样品未达到满意的分离效果, 葛根素峰峰形不对称, 可能与所用色谱柱有关, 有待进一步研究。本实验中葛根素的含量测

定, 样品处理简单, 色谱分离效果良好, 精密度高, 准确可靠, 可用于该制剂的质量控制。

[DO I] 10.3870/jydh.2011.02.039

[参考文献]

- [1] 卫生部药品标准·中药成方制剂(第四册)[S]. WS3-B-0210-90 169.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010 864.
- [3] 朱才庆, 李艳, 吴迪, 等. 障眼明分散片制备工艺与葛根素含量测定研究[J]. 中药材, 2009 32(5): 788-791.
- [4] 邓长凤, 龚友兰, 吴雪, 等. 葛根素微乳灌胃后大鼠血浆中葛根素的测定[J]. 中南药学, 2009 7(7): 499-502.

高效液相色谱法测定感冒舒颗粒中牛蒡子苷含量

刘雅茹, 周立娜, 郑杰, 梁晨

(中国医科大学药学院, 沈阳 110001)

[摘要] 目的 建立感冒舒颗粒中牛蒡子苷的含量测定方法。方法 采用高效液相色谱法, 色谱柱: Shim-pack CLC-ODS(4.6 mm×150 mm, 5 μm), 柱温为 40℃, 以甲醇-乙腈-pH 2.5 磷酸三乙胺水溶液 (20:15:65) 为流动相, 检测波长 279 nm, 对牛蒡子苷进行含量测定。结果 牛蒡子苷在 0.12~0.73 μg 范围内线性关系良好, $r=0.9996$ ($n=5$), 平均加样回收率 95.95%, RSD 为 3.90%。结论 该法简便、准确、快速, 可作为感冒舒颗粒的质量控制方法。

[关键词] 牛蒡子苷; 感冒舒颗粒; 色谱法, 高效液相

[中图分类号] R286 R927.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-0781(2011)02-0247-02

感冒舒颗粒由大青叶、连翘、荆芥、防风、薄荷、牛蒡子、桔梗、白芷、甘草等 9 味药材组成^[1], 具有疏风清热、发表宣肺的功能。用于风热感冒、头痛体困、发热恶寒、鼻塞流涕、咳嗽咽痛等证的治疗^[2]。该方收载于《中华人民共和国药典》2005 年版一部, 其中牛蒡子辛、苦、寒, 具疏散风热、解毒透疹、利咽消肿的功效, 所含牛蒡子苷为其主要活性成分。为更有效控制感冒舒颗粒质量, 笔者采用高效液相色谱 (HPLC) 法测定制剂中牛蒡子苷的含量, 该法操作简便, 结果准确, 重复性好, 可作为感冒舒颗粒制剂的质量控制方法。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-6A 液相色谱仪, 中北工作站, SPD-6AV 检测器; 牛蒡子苷对照品 (中国药品生物制品检定所, 供含量测定用, 批号: 110819-200404), 感冒舒颗粒 (本院自制, 批号: 060211, 060214, 060215, 060217), 自制缺牛蒡子的阴性样品 (药材由辽宁省医药股份有

限公司中药材分公司提供)。乙腈、甲醇为色谱纯, 水为重纯化水。其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 Shim-pack CLC-ODS (4.6 mm×150 mm, 5 μm), 柱温 40℃。流动相甲醇-乙腈-pH 2.5 磷酸三乙胺水溶液 (20:15:65), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 279 nm, 进样量 5 μL, 理论塔板数按牛蒡子苷峰计算应不低于 5 000。

2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取五氧化二磷干燥器中减压干燥 24 h 的牛蒡子苷对照品 15.22 mg 置于 50 mL 量瓶, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密吸取 5 mL, 置于 25 mL 量瓶, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 制成 0.06088 mg·mL⁻¹ 溶液, 作为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品 3 g 研细, 取粉末 0.5 g 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 密塞, 称质量, 超声处理 (功率 250 W, 频率 33 kHz) 30 min 放冷, 称质量 (必要时补足原质量), 摇匀, 用干滤器滤过, 精密量取续滤液 2 mL, 置 25 mL 棕色量瓶中, 加入甲醇稀释至刻度, 摇匀, 溶液经孔径

[收稿日期] 2010-03-17 [修回日期] 2010-04-20

[作者简介] 刘雅茹 (1962-), 女, 辽宁沈阳人, 教授, 硕士, 主要从事药物中间体合成及药物结构与活性的研究。电话: 024-23256666-5329 E-mail free1962514@yahoo.com.cn

0.5 μm微孔滤膜滤过,滤液作为供试品溶液。

2.2.3 检测波长的选择 取牛蒡子苷对照品溶液和供试品溶液,200~400 nm波长范围内扫描,结果牛蒡子苷对照品溶液与供试品溶液在279 nm处有最大吸收,故选择279 nm为检测波长。

2.2.4 阴性溶液的制备 取牛蒡子以外的其他药材,按处方及工艺制得不含牛蒡子的阴性样品,按供试品溶液的制备方法操作制成阴性溶液。

2.2.5 方法专属性考察 按“2.1”项色谱条件,分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性溶液5 μL注入液相色谱仪中。结果在与对照品色谱相应的位置上,供试品溶液具有相同保留时间的色谱峰,阴性溶液在此峰位无吸收,对本品中牛蒡子苷含量测定无干扰,方法专属性良好。

2.3 标准曲线的绘制 精密吸取0.06088 mg·mL⁻¹牛蒡子苷对照品溶液2,4,6,8,10,12 μL,注入液相色谱仪,测定色谱峰面积,以进样量为横坐标,色谱峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,回归方程为:Y=661.500X-7.984 r=0.999 6。测定结果提示,牛蒡子苷进样量在0.12~0.73 μg范围内线性关系良好。

2.4 精密度实验 精密吸取同一供试液5 μL,按“2.1”项色谱条件,重复进样5次,测定色谱峰面积。结果牛蒡子苷峰面积平均值为196.213 2,RSD为1.1%。

2.5 稳定性实验 精密吸取新配制的同一批供试品溶液5 μL,分别在0,2,4,6,8,16,24 h进样分析,测定色谱峰面积,结果RSD为1.4% (n=5),表明供试液在24 h内基本稳定。

2.6 重复性实验 取同一批样品5份,平行测定5次,结果供试液牛蒡子苷平均含量为13.95 mg·g⁻¹,RSD为3.0%。

2.7 回收率实验 取本品6份(含量13.95 mg·g⁻¹),每份0.5 g精密称定,精密加入0.173 6 mg·mL⁻¹牛蒡子苷对照品溶液32.333 0,50.039 1,41.4 mL,测定结果见表1。平均回收率95.95%,RSD=3.90%。

2.8 样品的测定 取4批样品(批号:060211,060214,060215,060217)。制成供试品溶液,分别精密吸取5 μL,按上述色谱条件测定峰面积,按外标法计算牛蒡子苷含量,每批样品测定5次。结果批号060211,060214,060215,060217样品牛蒡子苷平均含量分别为13.90 9,37.11 90,11.40 mg·g⁻¹,RSD分别为2.3%,2.4%,2.3%,2.6% (n=5)。

表 1 牛蒡子苷加样回收率实验				mg
取样量 / g	牛蒡子 苷质量	牛蒡子苷 加入量	测得量	回收率 / %
0.502 3	7.007	5.607	12.209	92.78
0.512 0	7.142	5.730	12.268	89.46
0.509 0	7.101	8.680	15.590	97.80
0.503 0	7.017	8.680	15.584	98.70
0.501 0	6.989	6.788	13.667	98.38
0.519 9	7.253	7.187	14.339	98.59

3 讨论

3.1 提取溶剂的选择 根据牛蒡子苷的化学性质,分别以乙醇与甲醇为溶媒,对牛蒡子苷提取量比较研究。结果乙醇为提取溶媒的测定结果为13.99 mg·g⁻¹ (n=5),甲醇为提取溶媒的测定结果为14.10 mg·g⁻¹ (n=5)。测定结果表明,两种溶媒提取效率基本相同,鉴于乙醇提取供试液中其他组分较多,易污染色谱柱,故选用甲醇为提取溶剂。

3.2 超声处理条件 笔者采用超声处理法制备供试液,并对不同超声处理条件进行了考察。考察超声时间分别为20,30,40 min,样品含量为10.1,13.9,13.8 mg·g⁻¹。结果提示,超声提取30 min,样品中牛蒡子苷已基本提取完全,故确立超声处理30 min为提取方法。超声处理条件分别为功率250 W、频率33 kHz,功率100 W、频率40 kHz,样品含量为13.9,12.1 mg·g⁻¹。故选用功率250 W,频率33 kHz。

3.3 流动相的选择及改进 《中华人民共和国药典》2005年版(一部)牛蒡子项下测定牛蒡子药材中牛蒡子苷采用甲醇-水(1:1.1)为流动相,但在本品中牛蒡子苷色谱峰与其他干扰组分色谱峰的分离效果不好。水的比例增加能使分离效果改善,但仍不能基线分离,流出慢,峰形宽。当加入缓冲溶液及乙腈时,分离效果有所改善,经过调整不同比例多次试验,最后确定最佳配比为甲醇-乙腈-pH2.5磷酸三乙胺水溶液(20:15:65)为流动相。分离效果较好,色谱图形对称而尖锐,拖尾因子0.97,重复性好。

[DOI] 10.3870/yydh.2011.02.040

[参考文献]

[1] 谢明. 方剂学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 9.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005. 645.

[3] 陈发奎. 常用中草药有效成分含量测定[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997. 68-70.