

HPLC 测定感冒退热颗粒中(R,S)-告依春含量

邹耀华, 刘宇文(杭州市药品检验所, 杭州 310017)

摘要: 目的 建立 HPLC 快速测定感冒退热颗粒中(R,S)-告依春含量的方法, 以控制其质量。方法 色谱柱: Inertsil ODS-SP(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.08%磷酸溶液(含 0.04%三乙胺)(5: 95); 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 245 nm; 柱温: 30℃。结果 (R,S)-告依春在 0.010 44~0.522 μg 内线性良好($r=0.999\ 9$), 加样回收率为 99.7%, RSD 为 0.79%($n=9$), 不同厂家生产的感冒退热颗粒中(R,S)-告依春含量差异较大。结论 本实验所建立的方法简单、准确、快速, 可为制药企业或药品监督管理部门控制感冒退热颗粒的质量提供一定的参考。

关键词: 高效液相色谱法; 感冒退热颗粒; (R,S)-告依春

中图分类号: R927.2; R917.101

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2011)11-1035-03

Determination of Epigoitrin Content in Ganmao Tuire Granules by HPLC

ZOU Yaohua, LIU Yuwen(Hangzhou Institute for Drug Control, Hangzhou 310017, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for rapid determination of epigoitrin content in Ganmao Tuire Granules. **METHODS** The sample was extracted by water and separated by Inertsil ODS-SP column, the mobile phase was acetonitrile-triethylamine phosphoric acid solution (included 0.08% phosphoric acid and 0.04% triethylamine) (5: 95), the detection wavelength was at 245 nm, flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, the column temperature was at 30 °C. **RESULTS** The linear range of epigoitrin was in 0.010 44–0.522 μg($r=0.999\ 9$). The average recovery was 99.7% with RSD of 0.79% ($n=9$). The epigoitrin content in Ganmao Tuire Granules was obviously different from different pharmaceutical factories. **CONCLUSION** This method is simple, rapid and reproducible, and it can be used as a low-cost, convenient method for measuring epigoitrin content in Ganmao Tuire Granules, and it can provide reference for relative company and state food and drug administration.

KEY WORDS: HPLC; ganmao tuire granules; epigoitrin

感冒退热颗粒收载于中国药典 2010 年版一部, 由大青叶、板蓝根、连翘及拳参四味中药组成^[1], 具有清热解毒、疏风解表之功效, 临床上主要用于上呼吸道感染、急性扁桃体炎等症。方中板蓝根具有清热解毒、凉血利咽的作用, 过去认为靛蓝、靛玉红等成分为板蓝根的抗病毒成分, 但随着人们对板蓝根活性成分的研究深入, 发现靛蓝、靛玉红并没有抗病毒活性, 也有文献报道^[2-3]测定板蓝根及感冒退热颗粒中腺苷的含量来衡量其质量, 但腺苷也不具有抗病毒的作用。现代研究表明(R,S)-告依春等成分具有显著的抗病毒活性^[4], 因此(R,S)-告依春的含量可以成为衡量感冒退热颗粒质量的一个重要指标。目前, 感冒退热颗粒质量标准的鉴别主要是通过薄层色谱检查靛玉红, 因大青叶中也含有靛玉红成分, 该鉴别不是控制板蓝根质量的专属项目, 因此, 现行质量标准无控制板蓝根质量的专属项目, 所以本实验建立了 HPLC 测定感冒退热颗粒中(R,S)-告依春含量的方法, 可为控制产品中板蓝根质量及完善

其质量标准提供科学依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器及主要设备

Agilent 1200 高效液相色谱仪; Inertsil ODS-SP 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); XS105 电子天平(瑞士METTLER)。

1.2 试剂与对照品

乙腈(色谱纯, Merck); 水为超纯水; (R,S)-告依春对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 111753-200601); 磷酸、三乙胺为分析纯, 国药集团化学试剂有限公司。

1.3 实验样品

感冒退热颗粒(浙江泰康药业集团新余制药有限公司, 批号: 110110; 中山市恒生药业有限公司, 批号: 20091202; 四川大千药业有限公司, 批号: 100902; 四川禾润制药有限公司, 批号: 100401)。

2 方法和结果

2.1 色谱参数

色谱柱: Inertsil ODS-SP(4.6 mm×250 mm, 5

作者简介: 邹耀华, 男, 硕士生, 主管技师

Tel: (0571)85463891

E-mail: zouyaozhua@hz.cn

μm); 流动相: 乙腈-0.08%磷酸溶液(含0.04% 三乙胺)(5 : 95); 流速: $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 检测波长: 245 nm; 柱温: $30 \text{ }^\circ\text{C}$; 理论板数按(R,S)-告依春计应 ≥ 5000 。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取经五氧化二磷减压干燥过夜的(R,S)-告依春对照品 5.22 mg置 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品贮备液; 精密吸取对照品贮备液 10.0 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液(浓度为 $20.88 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)。

2.3 供试品溶液的制备

取感冒退热颗粒 10 袋内容物, 混匀, 取 2 袋量, 研细, 取约 3 g 或 1 g(无蔗糖), 精密称定, 加热水 30 mL使溶解, 放冷, 转移至 50 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 进样 $20 \mu\text{L}$ 。

2.4 阴性对照溶液的制备及专属性试验

取大青叶、连翘、拳参适量, 按感冒退热颗粒的工艺制法, 加入蔗糖和糊精, 依法制得缺板蓝根的阴性对照, 取该阴性对照样品适量, 按“2.3”项下方法处理, 依法制得阴性对照溶液, 注入液相色谱仪测定, 结果在(R,S)-告依春对照品溶液保留时间相同的位置上无色谱峰, 表明阴性对照无干扰。色谱图见图1。

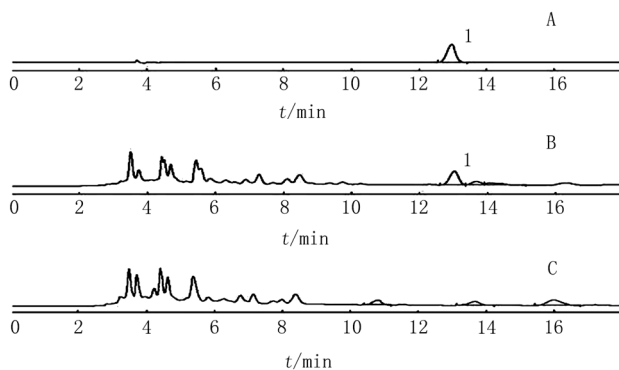


图1 高效液相色谱图

A-对照品; B-供试品; C-阴性样品; 1-(R,S)-告依春

Fig 1 HPLC chromatograms

A-standard; B-sample; C-blank sample; 1-epigoitrin

2.5 线性关系考察

精密吸取对照品溶液 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 得质量浓度分别 1.044, 2.088, 5.22,

$10.44, 20.88, 52.2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液, 分别精密吸取上述对照品溶液各 $10 \mu\text{L}$, 注入液相色谱仪, 按“2.1”项下色谱条件测定, 以对照品的进样量(μg)为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 回归方程为 $Y=4958.3X+11.132$, $r=0.9999$, 表明(R,S)-告依春对照品在 $0.01044\sim 0.522 \mu\text{g}$ 内线性良好。

2.6 仪器精密度实验

精密吸取对照品溶液 $10 \mu\text{L}$, 按“2.1”项下色谱条件测定, 连续进样 6 次, 结果(R,S)-告依春峰面积 RSD为 0.4% ($n=6$), 表明分析仪器具有良好的精密度。

2.7 稳定性实验

精密吸取对照品溶液 $10 \mu\text{L}$, 分别于 0, 2, 4, 8, 12, 16, 24 h 各进样 1 次, 测定(R,S)-告依春峰面积, 结果峰面积 RSD 为 0.9% , 说明(R,S)-告依春至少在 24 h 内稳定。

2.8 重复性实验

取同一厂家的感冒退热颗粒 1 g(无蔗糖), 平行精密称取 6 份, 按“2.3”项下方法处理, 依法测定(R,S)-告依春含量, 结果为 $83.10 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 为 0.3% ($n=6$), 表明该方法重复性良好。

2.9 加样回收实验

取已知(R,S)-告依春含量的感冒退热颗粒 0.5 g(无蔗糖), 平行精密称取 9 份, 分成 3 组, 每组各分别精密加入对照品贮备液 0.3, 0.4, 0.5 mL, 在室温下挥去溶剂, 按“2.3”项下方法处理, 测定结果见表 1。

表1 回收试验结果($n=9$)

Tab 1 Results of recovery test ($n=9$)

样品 取样量/g	样品中 实际含量/ μg	加入 对照品量/ μg	测得 总量/ μg	回收率/%	RSD/%
0.502 1	41.725	31.32	72.464	99.21	
0.505 2	41.982	31.32	73.502	100.27	
0.495 2	41.151	32.32	72.989	99.34	
0.488 5	40.594	41.76	82.041	99.62	
0.512 4	42.580	41.76	84.88	100.64	0.79
0.521 7	43.353	41.76	85.245	100.15	
0.497 9	41.375	52.20	92.055	98.38	
0.500 5	41.592	52.20	93.119	99.28	
0.518 8	43.112	52.20	96.104	100.83	

2.10 耐用性实验

取供试品溶液, 分别采用另外两根不同厂家

的色谱柱(Agilent zorbax SB C₁₈柱, 4.6 mm×150 mm, 5 μm; phenomenex luna C₁₈柱, 4.6 mm×250 mm, 5 μm)进行试验, 结果(R,S)-告依春峰与前后杂质峰的分离都符合系统适用性要求。

2.11 样品测定

按“2.3”项下测定方法测定不同厂家生产的感冒退热颗粒中(R,S)-告依春含量(按标示装量计算), 结果见表2。

表 2 不同厂家生产的感冒退热颗粒中(R,S)-告依春含量(n=3)

Tab 2 Epigoitrin content in Ganmao Tuire Granules of different pharmaceutical factories(n=3)

生产厂家	批号	规格/ g·袋 ⁻¹	含量/ g·袋 ⁻¹	RSD/%
浙江泰康药业集团新余制药有限公司	110110	4.5	374.0	0.3
中山市恒生药业有限公司	20091202	18	111.6	0.7
四川大千药业有限公司	100902	18	22.0	1.5
四川禾润制药有限公司	100401	18	11.3	2.1

3 讨论

中国药典 2010 年版一部收载的板蓝根质量标准中增加了(R,S)-告依春含量测定^[1]。板蓝根在感冒退热颗粒的处方中所占比例为 1/3, 因现有质量标准无控制板蓝根质量的专属项目, 所以本实验选择了测定具有抗病毒活性的(R,S)-告依春含量来控制产品的质量。

根据(R,S)-告依春的溶解度, 本实验曾选择乙酸乙酯、氯仿、甲醇、50%甲醇、乙醇、稀乙醇等

溶剂提取, 虽然有的溶剂提取的杂质少, 但提取效率不理想。根据感冒退热颗粒的制法, 其工艺为水煎煮的浸膏, 辅料为蔗糖和糊精, 均易溶于水, 所以用水作为溶剂提取效率最好, 回收率最高, 与中国药典 2010 年版一部板蓝根含量测定的提取溶剂一致。关于检测波长的选择, 本实验也参照中国药典 2010 年版一部板蓝根含量测定方法, 选择 245 nm 作为检测波长, 流动相在其基础上适当提高了磷酸的浓度, 用于改善分离, 并加了少量三乙胺用于改善峰型。

从检验结果来看, 不同厂家生产的感冒退热颗粒中(R,S)-告依春含量差异较大, 因此需要对感冒退热颗粒中(R,S)-告依春含量进行质量控制, 不同厂家生产的感冒退热颗粒中(R,S)-告依春含量差异较大的原因还有待进一步分析。

REFERENCES

- [1] Ch.P (2010) Vol I (中国药典 2010 年版.一部)[S]. 2010: 191, 1185.
- [2] ZHAO C. Determination of Adenosine in Ganmao Tuire Granules by HPLC [J]. Res Prac Chin Med(现代中药研究与实践), 2008, 22(4): 28-29.
- [3] XIE Z M, ZHOU L Z, LI W H, et al. Determination of Adenosine content in Banlangen and Banlangen Granule by HPLC method [J]. Guid J Tradit Chin Med Pharm(中医药导报), 2009, 15(9): 53-55.
- [4] XU L H, HUANG F, CHENG T, et al. Antivirus constituents of radix of isatis indigotica [J]. Chin J Nat Med(中国天然药物), 2005, 3(6): 359-360.

收稿日期: 2011-02-24

枣椹安神颗粒质量标准研究

张永锋¹, 许红辉¹, 杨丽荣², 李正杰¹, 柏艳柳¹, 陆欣³(1.河北以岭医药研究院有限公司, 石家庄 050035; 2.石药集团中奇制药技术(石家庄)有限公司, 石家庄 050051; 3.河北省食品药品监督管理局, 石家庄 050091)

摘要: 目的 建立枣椹安神颗粒的质量控制标准。方法 采用薄层色谱法鉴别方中的酸枣仁、陈皮、茯苓、桑椹、菊花, 采用高效液相色谱法测定橙皮苷的含量。结果 鉴别方法专属性强, 定量方法简便、准确, 橙皮苷在 136.32~2 453.76 ng 内线性良好($r=1.000$), 平均回收率($n=9$)为 96.69%, RSD 为 1.10%($n=9$)。结论 本质量标准可有效地控制枣椹安神颗粒的质量。

关键词: 枣椹安神颗粒; 质量标准; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

中图分类号: R943.3

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2011)11-1037-05

作者简介: 张永锋, 男, 工程师 Tel: (0311)85901768-8831 E-mail: a8775@126.com

中国现代应用药学 2011 年 11 月第 28 卷第 11 期

Chin JMAP, 2011 November, Vol.28 No.11

• 1037 •