

法制备供试品溶液,按2.4.1项色谱条件分别测定3批样品。结果见表2。

表2 3批样品测定结果 (n=3)

批号	绿原酸平均质		芦丁平均质	
	量分数/(mg/g)	RSD/%	量分数/(mg/g)	RSD/%
100604	16.81	0.80	33.73	1.11
100605	16.70	0.83	33.03	1.06
100606	16.60	0.79	33.38	1.09

### 3 讨论

3.1 在建立检测天山雪莲凝胶剂样品中的绿原酸和芦丁的HPLC色谱条件时,参考相关文献[7-8],采用双波长检测法进行考察,即在327 nm处检测绿原酸,257 nm处检测芦丁。结果通过提取色谱图发现,双波长检测法所得绿原酸和芦丁的峰形及分离度均不理想。另参考中国药典2010年版和相关文献[9-10],检测波长为340 nm。通过提取色谱图发现,绿原酸的分离度达不到要求,且芦丁的峰形对称性不理想。因此,本实验依据全波段扫描结果(绿原酸最大吸收波长为325 nm,芦丁最大吸收波长分别为254 nm及353 nm),在检测波长为353 nm,所得绿原酸和芦丁色谱图的峰形与分离度均达到要求。

3.2 在建立高效液相色谱法同时测定天山雪莲凝胶剂中绿原酸和芦丁色谱条件时,流动相的选择参考文献[11-12],采用了甲醇-磷酸、乙腈-磷酸系统进行考察,结果乙腈(A)-0.4%磷酸(B)  $\rho \sim 13 \text{ min } 12\%$  (A),  $13 \sim 16 \text{ min } 12\%$  (A)  $\sim 15\%$  (A),  $16 \sim 40 \text{ min } 15\%$  (A)时,绿原酸和芦丁的峰形均对称,分离完全,阴性样品无干扰。方法准确、灵敏、快速、重现性好,可作为该制剂的含量控制方法。

3.3 经3批样品中绿原酸和芦丁测定,绿原酸质量浓度在16.60~16.81 mg/mL,芦丁质量浓度在33.03~33.73 mg/mL,因此考虑到实际生产中天山雪莲药材的来源,以及提取、纯化过程、储藏环境等因素对含量的影响,故暂定本品:

每克含绿原酸不得少于13.37 mg;每克含芦丁不得少于26.70 mg。

### 参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2010年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 51.
- [2] 赵德修, 赵丽丽. 雪莲花的研究进展[J]. 中草药, 1996, 27(16): 372.
- [3] 刘发, 孙玉华, 张云珍, 等. 新疆雪莲的应用基础研究[J]. 新疆中医药, 2004, 22(6): 12.
- [4] 李燕, 郭顺星, 王春兰, 等. 新疆雪莲化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(2): 162.
- [5] Li Yan, Wang Chunlan, Guo Shunxing, et al. Three guaianolides from *Saussurea involucrata* and their contents determination by HPLC[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2007, 44: 288.
- [6] 李春红, 田吉, 何兵, 等. 川银花中绿原酸的薄层鉴别和含量测定[J]. 华北煤炭医学院学报, 2009, 11(4): 492.
- [7] 翟科峰, 邢建国, 何承辉, 等. 正交试验法优选天山雪莲提取工艺的研究[J]. 中成药, 2008, 30(10): 1455-1457.
- [8] 吴迪, 王峰涛, 张勉. 高效液相色谱法同时测定款冬花中芦丁、异槲皮苷、绿原酸的含量[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(20): 2722.
- [9] 郝凤霞, 郝洪涛, 杨敏丽. RP-HPLC法同时测定金银花中绿原酸·芦丁·木犀草素的含量[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(24): 11545.
- [10] 陈勇, 李艳苓, 李立, 等. HPLC法测定山绿茶不同炮制品种中绿原酸和芦丁的含量[J]. 广西科学院学报, 2006, 22(S): 417.
- [11] 董建辉, 华卡. 高效液相色谱法同时测定天山雪莲中绿原酸和芦丁的含量[J]. 中南药学, 2007, 5(4): 333-335.
- [12] 苏来曼·哈力克, 凯赛尔·阿不拉敏, 德. RP-HPLC测定不同产地不同采集期天山雪莲中绿原酸和芦丁[J]. 中草药, 2007, 38(9): 1412-1414.

## 乌贝颗粒质量控制研究

刘军玲, 黄丽丹

(安徽省食品药品检验所, 安徽 合肥 230051)

摘要: 目的 建立乌贝颗粒的质量控制方法。方法 采用 Agilent  $C_{18}$  色谱柱(150 mm  $\times$  4.6 mm  $5 \mu\text{m}$ ), 以乙腈-水-二乙胺(70:30:0.03)为流动相, 柱温30  $^{\circ}\text{C}$ ; 体积流量1.0 mL/min; 蒸发光散射检测器, 测定乌贝颗粒中浙贝母的活性成分贝母素甲与贝母素乙; TLC法对方中的浙贝母进行定性鉴别。结果 TLC色谱中可检出浙贝母; 贝母素甲进样量在0.878 4~8.784 0  $\mu\text{g}$  范围内, 贝母素乙进样量在0.832 8~8.328 0  $\mu\text{g}$  范围内, 线性关系良好, 平均回收率为97.8% (RSD为0.9%,  $n=6$ )。结论 此法准确, 重复性好, 可用于乌贝颗粒质量的控制。

收稿日期: 2010-06-30

作者简介: 刘军玲(1973—), 女, 硕士, 主管药师。研究方向: 中药制剂的质量评价及新剂型研究。Tel: (0551) 3358053, E-mail: liujun-ling1973@sina.com

关键词: 乌贝颗粒; 高效液相-蒸发光散射法; 浙贝母; 贝母素甲; 贝母素乙

中图分类号: R927.2

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2011)09-1635-03

乌贝颗粒为安徽天元药业有限公司独家生产品种由乌贝散改型而成, 收载于国家药品标准新药转正第39册。其处方组成为浙贝母、海螵蛸, 原标准收载了贝母素甲、贝母素乙的薄层色谱鉴别及海螵蛸主要成分碳酸钙的定量测定, 为更有效的控制其质量, 本实验采用HPLC-ELSD法测定其贝母素甲、贝母素乙, 并在TLC鉴别方法中增加了浙贝母对照药材作为对照, 增强了专属性和针对性。

### 1 仪器与试剂

1200 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); 蒸发光散射检测器(Allench ELSD 2000ES)(Agilent 公司); METTLER TOLEDO AG285(百万分之一); Sartorius BP160p 电子天平(万分之一); 市售硅胶 G 薄层板(烟台大学生物科学与工程学院, 青岛海洋化工厂分厂); 浙贝母对照药材(120972-200404)、贝母素甲(110750-200608, 供定量测定用)和贝母素乙对照品(110751-200608, 供定量测定用)均由中国药品生物制品检定所提供, 乌贝颗粒(安徽天元药业有限公司, 批号: 070501、080501、081101); 乙腈为色谱纯(天津康科德); 水为纯化水; 其余试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

2.1 浙贝母薄层鉴别 取本品 20 g, 置烧瓶中, 加氨水 10 mL, 浸润 1 h, 加环己烷 80 mL, 加热回流 2 h, 滤过, 蒸干, 加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取浙贝母对照药材 1 g, 同法制成对照药材溶液。再取贝母素甲对照品、贝母素乙对照品加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液, 作为对照品溶液。按工艺要求制成缺浙贝母的阴性制剂, 照供试品溶液制备方法, 制得阴性对照溶液。照薄层色谱法试验, 吸取上述 5 种溶液各 10  $\mu$ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正己烷-乙酸乙酯-二乙胺(6:4:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以稀碘化铋钾, 日光下检视。供试品色谱中在与对照药材及对照品色谱相应的位置上, 均显相同颜色的斑点。阴性对照色谱中, 在与对照药材、对照品色谱相应的位置上, 均未显相同颜色的斑点。见图 1。

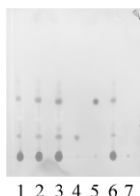


图 1 浙贝母薄层色谱图

1-3. 乌贝颗粒样品(070501、080501、080101) 4. 贝母素甲对照品  
5. 贝母素乙对照品 6. 浙贝母对照药材 7. 缺浙贝母阴性对照

### 2.2 定量测定

2.2.1 色谱条件 Agilent C<sub>18</sub>(150 mm × 4.6 mm, 5  $\mu$ m); 流动相: 乙腈-水-二乙胺(70:30:0.03); 柱温: 30  $^{\circ}$ C; 体积流量: 1.0 mL/min; 蒸发光散射检测器, 漂移管温度: 110  $^{\circ}$ C, 蒸

发温度 105  $^{\circ}$ C, 氮气体积流量: 1.5 mL/min; 理论塔板数以贝母素甲峰算不得低于 2 000。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称贝母素甲对照品 10.98 mg, 贝母素乙 10.41 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得(贝母素甲对照品溶液质量浓度为: 0.439 2 mg/mL, 贝母素乙对照品溶液质量浓度为: 0.416 4 mg/mL)。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品适量, 研细, 取 10 g, 精密称定, 加浓氨试液 5 mL, 浸润 1 h, 加三氯甲烷-甲醇(4:1)的混合溶液 80 mL, 加热回流 2 h, 放冷, 滤过, 再用三氯甲烷-甲醇(4:1)的混合溶液 20 mL, 少量多次洗涤容器与残渣, 滤过, 合并滤液, 滤液蒸干, 残渣加甲醇溶解, 转移至 5 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.4 阴性对照溶液的制备 取处方中缺浙贝母的其他药味, 按处方比例制成缺浙贝母的阴性对照样品(自制)。取阴性对照样品同供试品溶液的制备方法制得阴性对照溶液。

#### 2.2.5 系统适用性试验

2.2.5.1 理论板数( $n$ )的测定 取对照品溶液, 注入液相色谱仪中, 测得  $n = 162\ 93$ , 考虑到不同色谱柱之间的差异, 将理论塔板数订为不得少于 2 000。

2.2.5.2 分离度测定 取供试品溶液注入液相色谱仪中, 测得贝母素甲与贝母素乙的分离度为 5.2, 且与相邻峰分离度大于 1.5。

2.2.5.3 精密度试验 精密吸取对照品溶液 8  $\mu$ L, 连续进样 5 次, 测得峰面积积分值的自然对数及其平均值, 计算 RSD 值为 0.2%。

2.2.5.4 拖尾因子 取对照品溶液, 注入液相色谱仪中, 测得贝母素甲拖尾因子 0.95、贝母素乙拖尾因子 0.98, 均在 0.95 ~ 1.05 之间。

2.2.6 专属性试验 吸取上述对照品溶液、供试品溶液及阴性对照溶液, 分别注入液相色谱仪, 在上述色谱条件下, 供试品溶液取得了较好的分离效果, 贝母素甲与贝母素乙与其它组分均能达到基线分离; 阴性对照无干扰。见图 2。

2.2.7 线性关系的考察 分别精密吸取对照品溶液 2、4、6、8、10、20  $\mu$ L, 分别注入高效液相色谱仪, 测其峰面积积分值, 以峰面积值的自然对数为纵坐标, 质量浓度的自然对数为横坐标, 计算回归方程。结果: 贝母素甲  $Y = 1.592\ 9X + 2.186\ 4$  ( $r = 0.999\ 4$ )。贝母素乙  $Y = 1.556\ 8X + 2.102\ 7$  ( $r = 0.999\ 5$ )。结果表明贝母素甲进样量在 0.878 4 ~ 8.784 0  $\mu$ g 范围内, 贝母素乙进样量在 0.832 8 ~ 8.328 0  $\mu$ g 范围内, 进样量自然对数与峰面积积分值自然对数呈良好的线性关系。

2.2.8 稳定性试验 取供试品溶液, 在 8 h 内分别进样 5 次(0.1、2、4、8 h), 测定峰面积积分值, 结果其平均值为 851, RSD 为 0.6%。结果表明, 供试品溶液在 8 h 内稳定性良好。

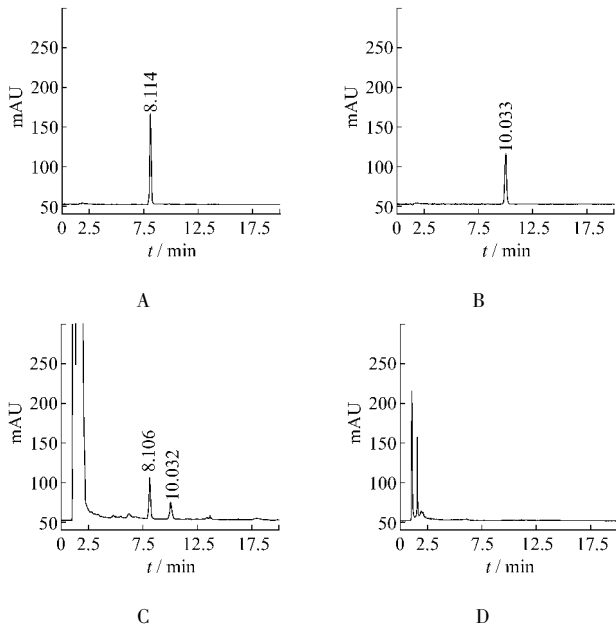


图2 HPLC 色谱图

A. 贝母素甲对照品 B. 贝母素乙对照品  
C. 乌贝颗粒样品 D. 阴性样品

2.2.9 重复性试验 取同一样品6份,分别按2.2.3项下的方法制备供试品溶液,按上述色谱条件进行测定,平均含贝母素甲( $C_{27}H_{45}NO_3$ )与贝母素乙( $C_{27}H_{43}NO_3$ )之和为0.83 mg/袋,RSD为0.4%。

2.2.10 加样回收率试验 取已测定的同一批样品6份(含贝母素甲与贝母素乙总和0.213 27 mg/g)精密称定,置于烧瓶中,分别精密加入对照品溶液(贝母素甲对照品8.874 mg,贝母素乙对照品7.287 mg,分别加甲醇至25 mL)2.0 mL,按供试品溶液制备方法制备供试液,测定,结果见表1。

表1 回收率试验结果

取样量/g	样品中原有量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
4.987 2	1.063 6	1.292 88	2.310 8	99.0		
5.014 4	1.069 4	1.292 88	2.302 0	97.9		
5.001 0	1.066 6	1.292 88	2.298 4	97.8	97.8	0.9
4.941 0	1.053 8	1.292 88	2.290 2	98.2		
5.009 4	1.068 4	1.292 88	2.299 2	97.8		
5.006 4	1.046 4	1.292 88	2.279 4	96.3		

试验结果表明,该方法回收率良好。

2.2.11 耐用性试验 取供试品分别用3种色谱柱:资生堂 $C_{18}$ 柱(150 mm×4.6 mm,5 μm);Agilent  $C_{18}$ 柱(150 mm×4.6 mm,5 μm);岛津 $C_{18}$ 柱(150 mm×4.6 mm,5 μm)进行测定,结果贝母素甲理论塔板数分别为:15 156、13 607、14 478;对称因子均在0.95~1.05范围内。表明该色谱条件下,对色谱柱的选择性不强,柱子适用范围广。

2.2.12 样品测定 按上述供试品溶液的制备方法和测定条件,测定3批样品中的贝母素甲和贝母素乙的总量,结果分别为每袋含0.85、0.80、0.88 mg。见表2。

表2 样品测定结果

批号	平均装量/(g/袋)	贝母素甲和贝母素乙/(mg/g)	平均质量分数/(mg/g)	贝母素甲和贝母素乙总量/(mg/袋)
070501	4.102 1	0.203	0.201	0.202
080501	4.020 3	0.200	0.201	0.200
081101	4.010 3	0.220	0.220	0.220

### 3 讨论

3.1 在薄层色谱鉴别中还曾采用三氯甲烷-甲醇(4:1)作为展开系统。效果亦较理想但考虑三氯甲烷的毒性较大,故未采用。

3.2 曾比较超声处理,回流提取,索氏提取等试验方法,结果表明加热回流提取率较高。

3.3 蒸发光散射检测器(ELSD)最大的优越性在于能检测不含发色团的化合物,任何挥发性低于流动相的样品均能被检测。目前ELSD广泛应用于HPLC,在使用ELSD进行检测时,由于在ELSD的气化室中载气流速对信号影响很大,太低或太高均导致信号不够准确。而漂移管温度降低时,溶剂挥发不够完全,温度高时则样品颗粒挥发导致检测仪响应下降。因此漂移管温度、蒸发温度及载气体积流量是影响实验的3个关键性参数,曾参考相关文献[1-9]选择漂移管温度:110℃,蒸发温度:105℃,氮气体积流量:1.5 mL/min,并经实验验证本法重复性和准确度均较好。

### 参考文献:

- [1] 高文远,李志亮,肖培根.常用中药浙贝母的研究进展[J].中国中药杂志,2001,21(6):323.
- [2] 洪梅.HPLC-ELSD测定平贝母中贝母素甲的含量[J].中国中药杂志,2006,31(12):1032.
- [3] 姜艳,李萍.HPLC-ELSD测定浙贝母中贝母素甲、贝母素乙的含量[J].中国药学杂志,2005,40(16):1257.
- [4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2005年版一部[S].北京:化学工业出版社,2005:274.
- [5] 张洁,李成网.HPLC-ELSD法测定皖贝止咳胶囊中贝母素甲和贝母素乙的含量[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(5):4.
- [6] 程显龙,肖新月,张南平等.HPLC-MS法测定中药材浙贝母中贝母素甲、贝母素乙的含量[J].中国药师,2008,11(7):770.
- [7] 王举涛,徐文方,刘金旗.HPLC-ELSD法测定黄芪中黄芪甲苷的含量[J].安徽医药,2006,10(1):28.
- [8] 田南卉,杨国红,方颖等.高效液相色谱法蒸发光散射检测器测定黄芪和制剂中黄芪甲苷的含量[J].药物分析杂志,2000,20(3):199.
- [9] 李静涛,邵丽华,巩飙.HPLC-ELSD法测定西洋参含片中人参皂苷Rg1、Re和Rb1的含量[J].药物分析杂志,2006,26(9):1289.
- [10] 袁杰.HPLC-ELSD法测定田七叶颗粒中人参皂苷的含量[J].安徽医药,2008,12(5):410.