

HPLC 法测定抗敏胶囊中升麻苷的含量

赵陆华, 屠颖, 严方, 孙如宁*

(中国药科大学 分析中心, 江苏 南京 210009)

抗敏胶囊由防风、黄芪、淫羊藿等 9 味中药经特殊制剂工艺提取后加适量赋形剂制成的胶囊, 临床上具抗过敏之功效, 作用显著, 且疗效持久, 用于治疗过敏性鼻炎。防风为方中君药, 升麻苷为其主要成分, 因制剂成分较多, 干扰较大, 文献报道的升麻苷的 HPLC 测定方法^[1~3]不适宜本品测定。经色谱条件优化, 本实验建立了一种 HPLC 法测定抗敏胶囊中升麻苷的含量, 重现性好, 可作为评价防风及其制剂中该成分的指标。

1 仪器与试药

日本岛津 LC-10A 高效液相色谱仪, SPT-10A 检测器, C-R6A 记录仪。乙腈为色谱纯, 枸橼酸、三乙胺、甲醇等均为分析纯, 水为二次重蒸水, 升麻苷对照品(中国药品生物制品检定所提供, 批号 980318), 抗敏胶囊(自制, 批号 990303、990310、990317)

2 方法与结果

2.1 测定波长的选择: 取升麻苷对照品适量, 用流动相溶解, 在 200~400 nm 波长扫描, 升麻苷在 300 nm 处有最大吸收, 故选 300 nm 作为检测波长。

2.2 色谱条件: 色谱柱: Alltima C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.01 mol/L 枸橼酸水溶液-乙腈(88:14, 三乙胺调节 pH 4.0); 检测波长: 300 nm; 体积流量: 1 mL/min; 进样量: 20 μL; 柱温: 室温。

2.3 溶液的制备

2.3.1 对照品溶液的制备: 取升麻苷对照品适量, 精密称定, 用甲醇配制成 15.10 μg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液的制备: 取本品 10 粒, 倾出内容物, 混匀, 精密称取 0.5 g, 置圆底烧瓶中, 加甲醇 20 mL, 水浴回流 2 h, 滤过, 甲醇定容至 25 mL, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.3.3 阴性对照溶液的制备: 取缺防风的其它各味中药按处方工艺制成阴性对照, 按 2.3.2 项下方法制成阴性对照溶液。

2.4 干扰考察: 分别精密吸取上述 3 种溶液各 20 μL, 注入液相色谱仪, 在上述色谱条件下测定, 结果阴性对照溶液对样品中升麻苷的测定无干扰。样品中升麻苷色谱峰的保留时间为 22.7 min, 用二极管阵列检测器做峰纯度检查, 匹配度为 999, 表明该峰为纯的色谱峰。色谱图见图 1。

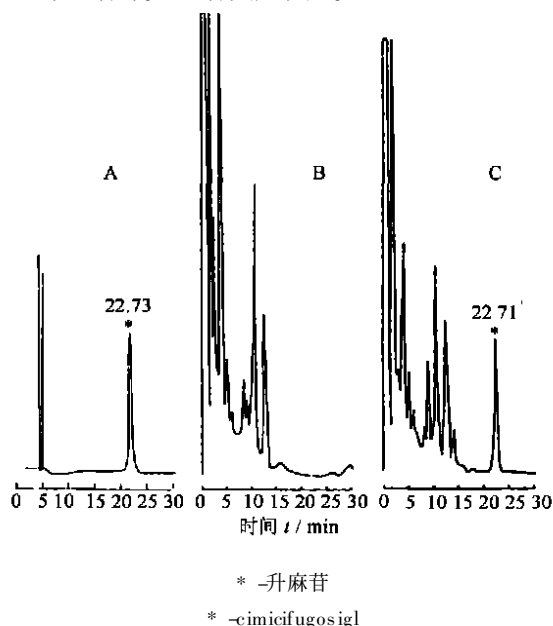


图 1 升麻苷对照品(A)、阴性对照(B)和抗敏胶囊(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of cimicifugosigl reference substance (A), negative sample (B), and Kangmin Capsule (C)

2.5 线性范围考察: 取升麻苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成 0.250 7 mg/mL 的贮备液。分别取上述溶液 0.5、1.0、1.5、2.5、4.0 mL 置 25 mL 量瓶中, 以甲醇稀释至刻度, 混匀, 分别进样 20 μL。以峰面积对质量浓度进行线性回归, 结果回归方程为 $A = 3.944 5 \times 10^3 C - 20.480 1$, $r = 0.999 8$ 。升麻苷在 5.014~40.11 μg/mL 与峰面积线性关系良好。

2.6 精密度试验: 取供试品溶液, 连续进样 6 次。测定升麻苷峰面积, 计算得其 RSD 为 1.0%。

2.7 稳定性考察: 取供试品溶液分别在 0、2、4、6、8

h 进样,测定升麻苷质量浓度,结果其 RSD 为 0.95%,表明样品溶液在 8 h 内稳定。

2.8 重现性试验:取同一批号样品 6 份,制备供试品溶液,分别测定升麻苷的质量分数,结果 RSD 为 1.6%。

2.9 回收率试验:采用加样回收率测定方法。取已知含量的样品 0.25 g(含升麻苷约 0.17 mg),按高、中、低浓度法分别添加一定量的对照品溶液(升麻苷的量分别约为 0.25、0.19、0.11 mg),制备成加样回收供试品溶液,并依法测定,结果平均回收率为 99.62%,RSD 为 2.1%($n=9$)。

2.10 样品测定:取不同批号的样品,制备供试品溶液,在选定色谱条件下,外标法测定升麻苷含量。结果见表 1。

表 1 抗敏胶囊中升麻苷含量测定结果($n=3$)

Table 1 Cimicifugoside in Kangmin Capsule ($n=3$)

批号	升麻苷/(mg·粒 ⁻¹)
990303	0.350 8
990310	0.348 2
990317	0.348 9

3 讨论

3.1 比较了甲醇、乙醇超声和回流提取,用氯仿、丙酮除杂方法,结果用甲醇回流提取 2 h 效果最佳。

3.2 比较了乙腈-水、甲醇-水、0.03 mol/L 枸橼酸-乙腈、0.01 mol/L 枸橼酸-乙腈(pH 3~6),结果 0.01 mol/L 枸橼酸-乙腈(pH 4)分离效果良好。

3.3 选用 Hypersil C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 10 μm)、Diamonsil C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 10 μm)、Alltima C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 10 μm),结果 Alltima C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 10 μm)分离的峰形对称,分离效果好。

References:

- [1] Wang J H, Tian Z, Lou Z Q. Determination of four chromones in Fangfeng (root of *Saposhnikovia divaricata* Schischk.) by HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1988, 8(6): 325-328.
- [2] Wang N H, Yuan C Q. Determination of Fangfeng (root of *Saposhnikovia divaricata* Schischk.) cultivate and wildness by HPLC [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 1990, 13(10): 9-10.
- [3] Tian Q, Li F M. Determination of prim-*O*-glucosylcimifugin and 4-*O*-β-*D* glucosyl-5-*O*-methylvisaminol in Ganmao-qin-gre Granules by RP-HPLC [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2002, 24(9): 671-673.

RP-HPLC 法测定咳停糖浆中盐酸麻黄碱和伪麻黄碱的含量

邓开英,姚丽佳,王白露,李汝惠*

(重庆市药品检验所,重庆 400015)

咳停糖浆是由麻黄、黄芩、金银花等十几味中药经提取制成的复方制剂,具有散寒宣肺,清热化痰,止咳平喘的功效。麻黄碱和伪麻黄碱为麻黄所含有效成分,与其功效直接相关。因此本实验建立了分离效果好、专属性强、灵敏度高的 RP-HPLC 法同时测定其中盐酸麻黄碱和伪麻黄碱的含量的方法,以控制产品的质量。

1 仪器与试药

HP1100 高效液相色谱仪(美国惠普);盐酸麻黄碱和伪麻黄碱对照品均由中国药品生物制品检定所提供,批号分别为 714-9903 和 1237-9601;咳停糖浆由重庆市中药研究院提供;乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱:Kromasil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)(天津特纳科学仪器有限公司);流动相:乙腈-0.02 mol/L 磷酸二氢钾溶液(含 0.2% 三乙胺,磷酸调 pH 2.7)(4:100);体积流量:1.5 mL/min;检测波长:214 nm;柱温:室温。在此色谱条件下,盐酸麻黄碱和伪麻黄碱色谱峰均与相邻色谱峰达到基线分离,阴性对照无干扰(图 1)。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备:分别取盐酸麻黄碱和伪麻黄碱对照品适量,精密称定,加 0.01 mol/L 盐酸溶液制成含两种成分 0.08、0.02 mg/mL 混合溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液的制备:精密量取本品 5 mL,置分液漏斗中,加浓氨水 10 mL,摇匀,用氯仿-异丙醇

* 收稿日期:2003-10-04

作者简介:邓开英(1968—),女,副主任药师,中国药科大学药物分析专业在读硕士,1990年毕业于上海医科大学药学专业,同年到四川省中药研究所从事新药研究开发,1997年至今在重庆市药品检验所工作,从事药物分析、新药质量标准研究。

Tel: (023) 89039422