

2.6 精密度试验:取积雪甘霜软膏供试品溶液 10 μ L,连续进样 6 次,测定各峰面积,计算得羟基积雪草苷和积雪草苷的 RSD 分别为 1.1% 和 1.7%。

2.7 稳定性试验:取积雪甘霜软膏供试品溶液,分别于 0、1、2、4、8、12 h 进样,测定峰面积,计算 RSD,结果羟基积雪草苷和积雪草苷的 RSD 分别为 0.77% 和 1.3%。结果表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.8 重现性试验:取同一样品,精密称取 6 份,制备供试品溶液,进样测定,计算得羟基积雪草苷和积雪草苷平均质量分数分别为 14.28、4.312 mg/g, RSD 分别为 2.4% 和 2.6%。

2.9 回收率试验:取积雪甘霜软膏样品(批号 031001)约 0.05 g,共 6 份,精密称定,加入 10 mL 混合对照品溶液(含羟基积雪草苷和积雪草苷分别为 0.792、0.204 mg),制备供试品溶液,进样测定,计算得羟基积雪草苷和积雪草苷的平均回收率分别为 98.25% 和 98.91%, RSD 分别为 2.4% 和 2.0%。

2.10 样品测定:对 3 批样品每批取样 3 个,制备供试品溶液,进行测定,采用外标二点法计算。结果见表 1。

表 1 积雪甘霜软膏中羟基积雪草苷和积雪草苷的测定结果($n=3$)

Table 1 Determination of hydroxy asiaticoside and asiaticoside in Jixuegan Shuang Cream ($n=3$)

批号	羟基积雪草苷/(mg $\cdot$ g $^{-1}$)	积雪草苷/(mg $\cdot$ g $^{-1}$)
051201	9.564	9.026
051202	11.24	10.18
051203	10.63	10.04

3 讨论

本实验选择蒸发光散射检测器作为检测手段对羟基积雪草苷和积雪草苷进行分析,可以克服羟基积雪草苷和积雪草苷在紫外末端检测时样品溶剂带来的溶剂峰的干扰,提高检测的专属性。由于积雪草总苷中含有的强保留成分,持续进样后基线会发生波动,干扰测定,因此如使用紫外检测法必须采用梯度洗脱^[1],以清除杂质干扰。采用本法可克服以上不足,缩短分析时间,简化分析操作。

蒸发光散射检测器受温度尤其是气体体积流量等参数的影响较大,色谱条件优选过程中,根据流动相的种类和比例,通过观察在不同漂移管温度和不同载气流速时色谱峰的信号强度,再结合基线的情况,最终确定本实验中蒸发光散射检测器的参数。在样品测定过程中,只要严格控制气体体积流量和保证气体的纯净度,每次采用外标两点法进行标准曲线的校正,其测定结果可以达到很好的重现。

References

- [1] Zeng J G, Song Y F, Xu X. Determination of the triterpenes constituents in *Centella asiatica* L. by HPLC [J]. *Prim J Chin Mater Med* (基层中药杂志), 2000, 14 (6): 7-8.
- [2] Gu L, Huang S, Lou Z X, et al. Determination of asiaticoside in formula particles of *Centella asiatica* by capillary zone electrophoresis [J]. *Acad J Sec Mil Med Univ* (第二军医大学学报). 2004, 25 (7): 796-797.
- [3] Xiao J, Che Z T, Bi K S. Pre-column derivatiation HPLC method for the determination of asiaticoside in *Centella asiatica* and Sanjinpian [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2000, 35 (8): 605-608.

HPLC 法测定温肾咳喘片中欧前胡素、蛇床子素、和厚朴酚、厚朴酚和甘草酸

于叶玲, 崔久峰, 唐 星

(沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

温肾咳喘片由蛇床子、厚朴和甘草组成,具有解痉、平喘、止咳祛痰之功效,主治咳嗽痰多、痰湿内阻、肺气壅滞、胸闷咳嗽等症。蛇床子素和欧前胡素是蛇床子中香豆素类成分的代表性成分,和厚朴酚、厚朴酚为厚朴中主要有效成分,甘草酸为甘草中的指标成分。本实验建立了 HPLC 法同时测定温肾咳喘片中主要药效成分欧前胡素、蛇床子素、和厚朴

酚、厚朴酚和甘草酸的方法。

1 仪器与试剂

Hitachi D-7000 高效液相色谱仪, D-7000 HSM 色谱工作站。欧前胡素对照品自制,经 HPLC 检查质量分数达 98% 以上,蛇床子素(批号 0737-200108)、和厚朴酚(批号 0730-9204)、厚朴酚(批号 0729-200006)对照品由中国药品生物制品检定所提

收稿日期:2006-03-05

作者简介:于叶玲(1976—),女,江苏泗阳人,在读药剂学博士。

Tel: (024)23986343 Fax: (024)23911736

供,甘草酸单铵盐对照品(批号 213750250)由百灵威化学技术有限公司提供,温肾咳喘片以及阴性样品(自制)。甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱为 Kromasil C₁₈ 柱(200 mm × 4.6 mm, 5 μm);柱温:30℃;流动相为甲醇-0.05 mol/L 醋酸铵-冰醋酸(60:40:0.5);体积流量:1.0 mL/min;检测波长:250 nm;进样量:20 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备:分别精密称取欧前胡素、蛇床子素、和厚朴酚、厚朴酚、甘草酸单铵盐对照品适量,加甲醇溶解,制成含欧前胡素 0.12 mg/mL、蛇床子素 0.9 mg/mL、和厚朴酚 0.24 mg/mL、厚朴酚 1.5 mg/mL、甘草酸单铵盐 0.9 mg/mL 的溶液,作为贮备液。临用时,吸取各贮备液 0.5 mL 置 10 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,即得混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备:取本品 20 片,研细,取约 0.13 g,精密称定,置 100 mL 量瓶中,加流动相适量,超声处理 30 min,放冷,加流动相至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

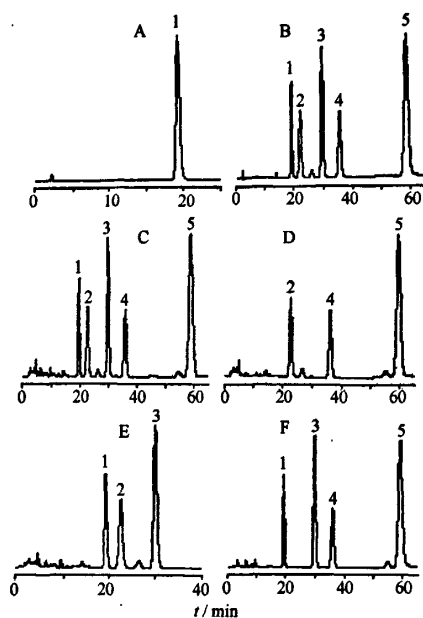
2.3 系统适用性试验:取对照品溶液、供试品溶液和缺蛇床子阴性、缺厚朴阴性、缺甘草阴性样品溶液进样测定,色谱图见图 1,各主成分峰可与相邻峰完全分离,阴性无干扰。

2.4 标准曲线的制备:精密量取对照品贮备液 0.12、0.25、0.5、0.75、1.0、1.5 mL 置 10 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀。按上述色谱条件进行分析,以 5 种成分的峰面积(A)对进样量(m)进行回归,得回归方程和线性范围。

欧前胡素: $A = 4 \times 10^6 m - 4\ 699$, $r = 0.999\ 9$, 线性范围:0.029~0.357 μg;蛇床子素: $A = 965\ 436 m - 1\ 615.9$, $r = 0.999\ 9$, 线性范围:0.211~2.640 μg;和厚朴酚: $A = 2 \times 10^6 m - 2\ 631.7$, $r = 0.999\ 9$, 线性范围:0.056~0.702 μg;厚朴酚: $A = 1 \times 10^6 m - 2\ 579.3$, $r = 0.999\ 9$, 线性范围:0.360~4.500 μg;甘草酸: $A = 552\ 859 m - 3\ 205.6$, $r = 0.999\ 9$, 线性范围:0.206~2.571 μg。

2.5 精密度试验:精密吸取对照品溶液 20 μL,在上述色谱条件下,连续进样 5 次,测定,计算得欧前胡素、蛇床子素、和厚朴酚、厚朴酚和甘草酸峰面积的 RSD 分别为 0.47%、0.29%、0.48%、1.05%、0.92%。

2.6 稳定性试验:取供试品溶液,分别在 0、1、2、4、6、8 h 测定,以峰面积计算欧前胡素、蛇床子素、和厚朴酚、厚朴酚和甘草酸的 RSD 分别为 0.75%、



1-欧前胡素 2-甘草酸 3-蛇床子素 4-和厚朴酚 5-厚朴酚
1-imperatorin 2-glycyrrhizic acid 3-osthole 4-honokiol
5-magnolol

图 1 欧前胡素对照品(A)、混合对照品溶液(B)、供试品溶液(C)、缺蛇床子阴性对照(D)、缺厚朴阴性对照(E)和缺甘草阴性对照(F)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of imperatorin reference substance (A), mixed reference substances (B), sample solution (C), negative samples without *Fructus cnidii* (D), negative samples without *Cortex Magnoliae Officinalis* (E), and negative samples without *Radix Gglycyrrhizae* (F)

0.78%、0.59%、2.32%、1.04%。结果表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.7 重现性试验:取同一批样品 6 份,制备供试品溶液,按上述色谱条件进行测定,以欧前胡素、蛇床子素、和厚朴酚、厚朴酚和甘草酸的质量分数计算, RSD 分别为 1.45%、1.47%、1.35%、1.84%、1.57%。

2.8 加样回收率试验:精密称取本品细粉 9 份,按高、中、低水平分别加入一定量对照品,制备供试品溶液,按上述色谱条件测定质量分数,计算回收率。结果欧前胡素的为 100.1%、蛇床子素的为 101.3%、和厚朴酚的为 101.2%、厚朴酚的为 99.7%、甘草酸的为 100.0%, RSD 分别为 1.1%、1.1%、1.2%、1.5%、1.3%。

2.9 样品的测定:按上述供试品溶液的制备方法和测定条件,测定了 5 批样品中欧前胡素、蛇床子素、和厚朴酚、厚朴酚和甘草酸的质量分数,结果见表 1。

表 1 温肾咳喘片中有效成分的测定结果 (n=3)

Table 1 Determination of effective components in Wenshen Kechuan Tablets (n=3)

批号	有效成分/(mg·片 ⁻¹)				
	欧前胡素	蛇床子素	和厚朴酚	厚朴酚	甘草酸
030301	2.25	16.70	4.41	27.23	16.52
030302	2.22	16.88	4.48	27.78	17.01
030303	2.24	16.80	4.42	27.81	16.52
030304	2.23	16.58	4.37	27.40	16.11
030305	2.29	16.62	4.48	27.80	16.56

3 讨论

温肾咳喘片中蛇床子、厚朴两味药材,采用超临界 CO₂ 萃取技术提取其有效部位,并经 β-环糊精包合固化,因此样品中含有大量 β-环糊精包合物,用醋酸乙酯、氯仿等弱极性溶剂无法充分有效地提取被包合的成分,而甲醇、乙醇对包合物具有很强的破坏作用,可使被包合的成分完全游离溶出。但样品中甘草酸为水溶性成分,所以本实验选用流动相作为供

试品溶液制备时的提取溶剂,可将样品中各有效成分完全提取。

经紫外扫描测定,欧前胡素、蛇床子素与和厚朴酚分别在 248、257、255 nm 波长处有特征吸收峰,而甘草酸的最大吸收波长为 250 nm。因特征吸收波长较为接近,因此考虑选用合适的流动相系统,在同一波长下同时测定欧前胡素、蛇床子素、和厚朴酚、厚朴酚和甘草酸。经试验,选用检测波长为 250 nm,此时厚朴酚仍有较强吸收,各组分均有较高灵敏度。

曾用甲醇-水系统为流动相进行色谱分离,结果色谱峰形宽而拖尾,这主要是由于甘草酸单铵盐的离解所致。因此采用甲醇-醋酸铵缓冲系统,并加入冰醋酸改变流动相的 pH 值,以抑制甘草酸盐离解。试验了不同 pH 值的流动相,当 pH 值为 3.5~4.0 时,色谱峰的不对称因子变小,峰的拖尾现象消除,峰形变窄。流动相中甲醇比例为 60% 时,样品中各测定组分可达到完全分离。

高效液相色谱法测定治伤跌打丸中芍药苷

鲁 敏, 金樟照, 莫 青

(浙江省药品检验所, 浙江 杭州 310004)

治伤跌打丸收载于《浙江省药品标准》1993 年版,由赤芍、蒲黄、陈皮、五灵脂、白及、木香等 9 味药组成,具有活血止痛的功效。原标准无定量测定。赤芍具有柔肝止痛作用,芍药苷为其指标成分。为了更有效地控制药品质量,本实验采用高效液相色谱法测定样品中芍药苷,结果方法操作简便,重复性好,能有效控制本制剂的质量。

1 仪器与试剂

Agilent1100 液相色谱仪,岛津 UV-260 紫外分光光度计。

芍药苷(批号 110736-200220,供定量测定用)由中国药品生物制品检定所提供。乙腈为色谱纯,其余为分析纯。治伤跌打丸样品由杭州胡庆余堂药业有限公司提供。

2 方法和结果

2.1 色谱条件:色谱柱 Discovery C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm);乙腈-0.1%磷酸(13:87)为流动相;检测波长为 230 nm;体积流量为 1 mL/min。在

此条件下能得到较好分离,且阴性无干扰,见图 1。

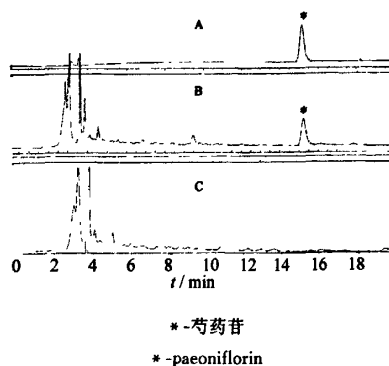


图 1 芍药苷对照品(A)、治伤跌打丸(B)和缺赤芍的阴性对照(C)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of paeoniflorin reference substance (A), Zhishang Dieda Pills (B), and negative sample without Radix Paeoniae Rubra (C)

2.2 供试品溶液的制备:取治伤跌打丸约 0.25 g,研细,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加入 50% 甲醇适