

2.6 精密度试验:精密吸取对照品溶液 $20\mu\text{L}$,重复进样 5 次,测得大黄素峰面积 RSD 为 0.9%;大黄酚峰面积 RSD 为 0.8%。

2.7 重现性试验:取同一批(批号:20030728)样品 5 份,制备供试品溶液,精密吸取 $20\mu\text{L}$,测定,测得大黄素质量分数为 0.149 mg/g , RSD 为 2.25% ($n=5$);大黄酚质量分数为 0.478 mg/g , RSD 为 2.33% ($n=5$)。

2.8 稳定性试验:取同一供试品溶液,精密吸取 $20\mu\text{L}$,分别于 0.5、1.3、2.4、2.8 h 测定大黄素、大黄酚的峰面积,计算得 RSD 分别为 0.78%、0.29%。说明供试品溶液在 28 h 内基本稳定。

2.9 回收率试验:采用加样回收法,取本品 5 份(批号:20030728,含大黄素 0.149 mg/g , 大黄酚 0.478 mg/g),每份约 0.4 g 精密称定,分别精密加入大黄素、大黄酚对照品溶液(含大黄素 0.076 mg/mL , 大黄酚 0.167 mg/mL) 1 mL ,按供试品溶液制备方法制备,测定,计算回收率,结果大黄素回收率为 100.2%, RSD 为 1.1%;大黄酚回收率为 99.4%, RSD 为 0.8%。

2.10 样品测定:对 3 批样品进行测定,结果见表 1。本品以大黄素和大黄酚的总量计,不得少于 0.5 mg/g 。

表 1 开胸理气冲剂中大黄素和大黄酚的含量测定结果 ($n=3$)

Table 1 Contents of emodin and chrysophanol in Kaixiong Liqi Granules ($n=3$)

批号	大黄素	大黄酚	大黄素+ 大黄酚
	$I(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$	$I(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$	$I(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$
20030728	0.149	0.478	0.627
20030809	0.180	0.469	0.649
20030816	0.163	0.495	0.658

3 讨论

《中华人民共和国药典》2000 版一部“大黄”项下对大黄素、大黄酚的 HPLC 定量所用检测波长为 254 nm , 本实验使用检测时,结果干扰很大。经摸索,用乙腈-0.1% 磷酸溶液 (70:30) 做流动相,检测波长改为大黄素、大黄酚均有吸收峰的 287 nm , 避开杂质干扰,大黄素、大黄酚分离效果好。

在样品处理时,若先用甲醇提取,再用氯仿回流提取,杂质太多,干扰测定结果,后直接用氯仿回流提取,再用 2.5 mol/L 硫酸溶液超声震荡提取 5 min,测量结果回收率高,重现性好,干扰小。

Reference

- [1] Chang JM, Gao H, Zhang X, et al. Determination of emodin and chrysophanol in *Rheum rhizastachyum* Schrenk by HPLC [J]. *West China J Pharm Sci* (华西药科学杂志), 2003, 18(1): 57-58.

RP-HPLC 测定小儿感冒退热糖浆中连翘苷的含量

黄诺嘉, 杨文红, 郑剑红*

(汕头市药品检验所, 广东 汕头 515041)

小儿感冒退热糖浆是由连翘、大青叶、紫苏叶、桑枝等 7 味中药制成的中药制剂,具有清热解毒、疏风解表之功效,临床上用于治疗伤风感冒,畏冷发热,咽喉肿痛,头疼咳嗽。原有的《广东省药品标准》仅规定了 3 个理化反应作为定性鉴别来控制质量,尚未有定量指标。连翘是该制剂的主药,连翘中的有效成分连翘苷具有较强的抗菌、抗炎作用。本实验以连翘苷为该制剂的质量控制指标,建立了 RP-HPLC 法测定小儿感冒退热糖浆中连翘苷含量的方法。该法简单、结果准确,重现性好,可用于该药的质量控制。

1 仪器与试剂

TSP-2000A 高效液相色谱仪(美国 TSP), UV-6000 检测器, P-2000 泵, PC-1000 色谱工作站。连翘苷对照品由中国药品生物制品检定所提供,批号:0821-9602,供含量测定用。小儿感冒退热糖浆,缺连翘阴性对照均由汕头市时代制药厂提供。乙腈为色谱纯,水为重蒸馏水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱:ODS 柱 ($150\text{ mm} \times 4.6\text{ mm}$, $5\mu\text{ m}$, 大连依利特科学仪器有限公司);流动相:乙腈-水 (22:78);体积流量: 1 mL/min ;柱温:

* 收稿日期:2003-11-22

作者简介:黄诺嘉(1956-),广东汕头人,副主任药师,主要从事药物分析和质量标准研究工作,发表论文 50 余篇。Tel (0754) 8392240

室温;检测波长: 277 nm^[1];进样量: 20 μL

2.2 溶液的制备

2.2.1 供试品溶液的制备^[2,3]:取本品 5 支,混匀,精密量取 20 mL,置锥形瓶中,加氯仿,水浴回流提取 4 次,每次 40 mL,回流 30 min,合并 4 次氯仿液,水浴蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,加中性氧化铝 1 g 拌匀,加于已装好的中性氧化铝柱(100~200 目,5 g,内径 1~1.5 cm)上,用 70% 乙醇 100 mL 洗脱,收集洗脱液,浓缩至干,残渣用甲醇溶解后转移至 5 mL 量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45 mg)滤过,作为供试品溶液

2.2.2 阴性对照溶液的制备:取缺连翘的阴性样品,按 2.2.1 项下方法制备,作为阴性对照溶液。

2.2.3 对照品溶液的制备:精密称取连翘苷对照品(P₂O₅真空干燥 24 h) 27.04 mg,置 25 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得 1.082 mg/mL 对照品溶液

2.3 色谱系统适应性试验:分别取上述对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 20 μL 注入色谱仪,记录色谱图(图 1)。结果供试品溶液在与连翘苷相同保留时间处有连翘苷色谱峰出现,且连翘苷与其他组份分离完全,而阴性对照溶液无干扰。理论板数按连翘苷峰计大于 3 000

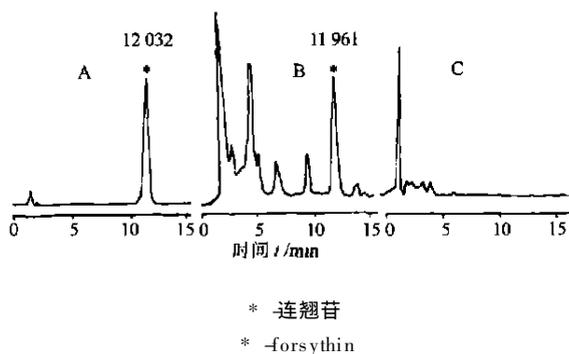


图 1 连翘苷对照品(A)、小儿感冒退热糖浆(B)和缺连翘阴性对照(C)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC of forsythin (A), Xiao'er Ganmaotuire Syrup (B), and negative sample (C)

2.4 线性关系的考察:分别吸取连翘苷对照品溶液 0.06 0.12 0.25 0.50 0.75 1.00 1.50 2.00 mL 置 5 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。结果连翘苷在 12.98~432.8 μg/mL 与峰面积线性关系良好,其回归方程为 $Y = 2.3403 \times 10^5 + 6.5227 \times 10^7 X$, $r = 0.9998$

2.5 精密度试验:精密吸取同一供试品溶液,重复进样 5 次,测定连翘苷峰面积,计算得 RSD 为 0.87% ($n = 5$),色谱峰保留时间的 RSD 为 0.79% ($n = 5$)。

2.6 重现性试验:取同一批样品 5 份,制备供试品溶液,按上述色谱条件进行测定,结果连翘苷质量分数为 0.29 mg/皮, RSD 为 0.90% ($n = 5$)

2.7 稳定性试验:取连翘苷对照品溶液,于室温下 0 1 2 3 6 10 h 各进样 1 次,测定峰面积,结果 RSD 为 0.70% ($n = 6$)。取同一供试品溶液,于室温下 0 1 2 3 6 10 h 各进样 1 次,测定连翘苷峰面积,结果 RSD 为 1.14% ($n = 6$) 表明连翘苷对照品溶液和供试品溶液在 10 h 内稳定

2.8 加样回收率试验:精密量取已知含量的样品适量(含连翘苷 0.1484 mg),各准确加入连翘苷对照品 0.1623 mg,依法提取测定,记录色谱图,计算连翘苷含量,结果平均回收率为 99.62%, RSD 为 0.74% ($n = 4$)。

2.9 样品含量测定:取各批号样品,制备供试品溶液,分别精密吸取连翘苷对照品溶液与供试品溶液各 20 μL,注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定,结果见表 1

表 1 小儿感冒退热糖浆中连翘苷测定结果 ($n = 6$)

批号	连翘苷 / (mg · 支 ⁻¹)	批号	连翘苷 / (mg · 支 ⁻¹)
990408	0.81	020322	0.29
990608	0.74	020323	0.28
020321	0.37	020822	0.29

3 讨论

3.1 小儿感冒退热糖浆为中药复方制剂,各种成份相互干扰,采用乙腈-水不同比例为流动相,结果表明当乙腈与水的体积比为 22:78 时,分离效果较好,且阴性对照无干扰

3.2 在供试品溶液的制备时取样品直接上 D₁₀₁型大孔树脂柱,收集 70% 乙醇洗脱液,蒸干后定容测定,结果色谱图中连翘苷基线抬高。取样品于室温下用氯仿直接萃取,氯仿液蒸干后定容测定,结果连翘苷的分离度差。采用氯仿加热回流提取或氯仿于室温下振摇萃取,氯仿液浓缩后上中性氧化铝柱的方法。结果表明:加热回流比室温振摇萃取完全。对加热回流的次数进行比较,前 3 次回流的提取率约为 95.8%,第 4 次回流的提取率约为 4.2%,故提取 4 次为佳。对上柱后的 70% 乙醇洗脱液的洗脱量进行考察,洗脱液量分别为 50 100 150 mL,结果当洗脱液量为 100 mL 时,洗脱的效果较 50 mL 洗脱的为佳,且与 150 mL 洗脱的结果相一致,故选用洗脱液量为 100 mL。

3.3 从测定结果来看,不同批号之间,连翘苷的含量差异较大,这可能与药材质量不稳定有关,因而有

必要在质量标准中增加对连翘苷含量的控制

References

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol1. 2000.
 [2] Zhang W, Zhang H M, Guo M L. Determination of forsythin in *Fructus Forsythiae* and Ganmaotuire Granules by RP-HPLC

[J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1999, 21(9): 452-453.

- [3] Zhang G G, Xu S X, Wang X Y. Quantitative determination of phyllinin in the Antiviral Oral Liquid by HPLC [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 1998, 15(2): 90-93.

HPLC法测定升血灵片中大黄素的含量

王曙东, 费建红, 滕英博, 谢虞, 陈安兰*
 (南京军区南京总医院, 江苏 南京 210002)

升血灵片是我院制剂科与血液科共同研制的用于升血小板的中药制剂。本方由牛西西、黄芪、黄精、生地、熟地、肿节风等 10 味中药组成, 具有益气生血、补肾摄血, 用于血小板减少及其引起的紫癜、皮肤、黏膜、牙龈出血等症。方中牛西西具有活血止血之功效, 主治血小板减少症、内出血、跌打损伤等症。临床有较好的疗效。大黄素为牛西西中活性成分。为更好地控制药品质量, 本实验采用 HPLC 法对大黄素进行了含量测定。

1 仪器与试剂

1525-2996 高效液相色谱分析仪 (美国 Waters 公司), 大黄素 (中国药品生物物品检定所, 批号: 0756-200110), 所用试剂除甲醇为色谱纯外均为分析纯, 升血灵片 (本院制剂科提供, 批号: 001212 010702 020309)

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱 Lichrospher C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.1% 磷酸溶液 (85:15); 检测波长: 439 nm; 体积流量: 1.0 mL/min; 进样量: 10 μL。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取大黄素对照品适量, 加甲醇溶解并稀释成 0.5 mg/mL 溶液, 备用。

2.3 供试品溶液的制备: 取供试品 20 片, 去糖衣, 烘干, 研细, 精密称取约 4 g, 加乙醇 100 mL, 加热回流 1 h, 放冷, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 40 mL, 氯仿 40 mL, 盐酸 (1:1) 6 mL, 加热回流 1 h, 冷却, 分取氯仿液, 水溶液再用氯仿萃取 3 次 (20 15 15 mL), 合并氯仿液, 蒸干, 残渣加甲醇至 1 mL, 摇匀, 备用。

2.4 阴性对照溶液的制备: 按处方称取除牛西西以外的药材相应量, 加水煎煮 2 次, 每次 100 mL, 煎煮 1 h, 合并煎煮液, 浓缩至 30 mL, 加乙醇至 100 mL, 放

置过夜, 滤过, 滤液挥至约 4 mL, 余同供试品溶液的制备项下“加水 40 mL, 氯仿 40 mL……”操作, 即得。

2.5 干扰试验: 取供试品溶液、大黄素对照品溶液和缺牛西西的阴性对照溶液各 10 μL 分别进样, 记录见图 1 可见, 升血灵片中其他成分对大黄素的含量测定无干扰。

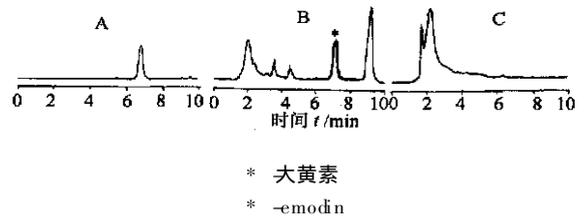


图 1 大黄素对照品 (A)、升血灵片 (B) 和缺牛西西阴性对照 (C) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC of emodin (A), Shengxueling Tablet (B), and negative sample (C)

2.6 线性关系考察: 精密量取大黄素对照品溶液适量, 加甲醇制成 0.5 0.4 0.2 0.1 0.05 mg/mL 的系列溶液, 在选定的色谱条件下, 取 10 μL 进样, 记录以峰面积 (A) 对质量浓度 (C) 进行线性回归, 得线性方程: $A = 2.43 \times 10^7 + 6.06 \times 10^4 C$, $r = 0.9997$ 可见大黄素在 0.5~0.05 mg/mL 与峰面积线性关系良好。

2.7 稳定性试验: 取供试品溶液, 室温下连续 3 d 测定峰面积, 结果大黄素峰面积 RSD 为 1.24% ($n=3$)。

2.8 精密度试验: 取同一供试品液进行 6 次进样, 测定峰面积, 结果大黄素峰面积 RSD 为 0.87% ($n=6$)。

2.9 回收率试验: 精密称取已知大黄素含量 (含大黄素约 0.09 mg/g) 的样品 2 g, 分别加 0.108 mg/mL 大黄素对照品溶液 1.4 1.6 1.8 2 mL, 按供试