

nm, 土的宁的 $\lambda_{\max}$ 为 254 nm, 两种生物碱对照品混合溶液的 $\lambda_{\max}$ 为 256 nm, 供试品溶液的 $\lambda_{\max}$ 为 265 nm, 故选择 260 nm 为测定波长。

References:

[1] Lu Y X, Cui J, Liu Y, *et al.* Determination of strychnine and brucine in Qubidan Capsule by RP-HPLC [J]. *Chin Hosp*

Pharm J (中国医院药学杂志), 2001, 21 (8): 474-475.

[2] He L. The method for the quantitative determination of *Semen Strychni* and their preparation [J]. *Anhui Med Pharm J* (安徽医药), 2004, 8 (4): 299-300.

[3] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.

[4] Jin H Y, Tian J G, Zhang L, *et al.* Determination of strychnine and brucine in *Semen Strychni* by RP-HPLC [J]. *Chin Pharm Aff* (中国药事), 2005, 19 (4): 219-221.

HPLC 法测定桑姜感冒片中连翘苷

王慧琛¹, 吴贵华², 吕曙华²

(1. 天津市津南区药品检验所, 天津 300350; 2. 天津市药品检验所, 天津 300070)

桑姜感冒片为常用感冒药, 收载在《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第 6 册中, 由桑叶、菊花、紫苏、连翘、苦杏仁、干姜 6 味药材组成, 具有散风清热、祛寒止咳等功效, 用于治疗感冒、咳嗽、头痛、咽喉肿痛症状。连翘具有清热解毒、消肿散结的功能, 与处方功效相佐, 故实验中以连翘苷为定量指标进行 HPLC 法测定。该方法专属性强、灵敏度高、重现性好, 可作为本品质量控制指标。

1 仪器与试药

岛津 LC10AD 高效液相色谱仪, SPD10AV 紫外检测器, SIL10A 自动进样器, CR54 数据处理机。

连翘苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 0821-200104), 桑姜感冒片由山西景和华禹制药有限公司提供; GDX-104 大孔吸附树脂(60~80 目, 批号 030221, 天津市化学试剂二厂)。中性氧化铝(100~200 目, 中国医药集团上海化学试剂公司)。乙腈为色谱纯, 甲醇为分析纯, 水为重蒸馏水。

2 方法和结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Phenomenex C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-乙腈-水(12:18:70); 体积流量: 1 mL/min; 检测波长: 277 nm; 柱温: 40 $^{\circ}$ C; 进样量: 10 μ L。

2.2 对照品溶液的制备: 取连翘苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成 15 μ g/mL 的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备: 取本品 10 片, 精密称定, 研细, 取 0.7 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 20 mL, 称定质量, 超声处理 50 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密吸取续滤液 5 mL, 加水至约 15 mL, 通过已处理好

的大孔吸附树脂柱(1.3 g, 内径 8 mm), 用 45% 甲醇 40 mL 洗脱, 弃去洗脱液, 继用 70% 甲醇 40 mL 洗脱, 收集洗脱液, 洗脱液通过中性氧化铝柱(0.5 g, 内径 8 mm), 用 70% 甲醇 20 mL 洗脱, 合并样品液及洗脱液, 减压浓缩至干, 残渣加甲醇使溶解, 移至 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 阴性样品液的制备: 按处方配比, 取除连翘的其他药材, 按本品制法项下的工艺制成颗粒, 再按供试品溶液的制备制得阴性样品液。

2.5 专属性试验: 分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液及阴性对照品溶液各 10 μ L, 注入液相色谱仪中, 测定。阴性对照样品在连翘苷相应的保留时间无色谱峰干扰。见图 1。

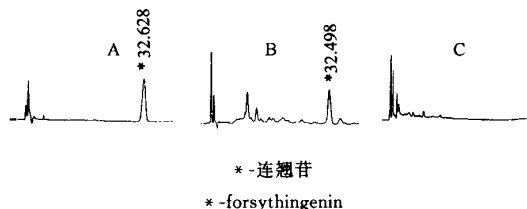


图 1 连翘苷对照品(A)、桑姜感冒片(B)和缺连翘的阴性对照(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of forsythigenin reference substance (A), Sangjiang Ganmao Tablets (B), and negative sample (C)

2.6 标准曲线的制备: 精密称取连翘苷对照品 10.44 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇使溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密吸取 3 mL, 置 20 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 分别精密吸取 5、10、20、25、30、33 μ L 注入液相色谱仪, 测定色谱峰面积。以连翘苷进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线,

得回归方程 $Y = 628\ 366.0 X + 775.86$, $r = 0.999\ 9$ 。连翘苷在 $0.078 \sim 0.516\ 8\ \mu\text{g}$ 与峰面积呈良好的线性关系。

2.7 精密度试验:取同一供试品溶液,精密吸取 $10\ \mu\text{L}$ 进样,连续进样 6 次,结果连翘苷峰面积的 RSD 为 0.84% 。

2.8 稳定性试验:取同一供试品溶液,精密吸取 $10\ \mu\text{L}$ 进样,分别在 0.4 、 8 、 12 、 16 、 $20\ \text{h}$ 进样,测定连翘苷峰面积,结果其 RSD 为 0.53% ,表明供试品溶液在 $20\ \text{h}$ 内稳定。

2.9 重现性试验:取同批号(批号 040516)5 份,制备供试品溶液,测定连翘苷的质量分数,结果平均质量分数为 $0.746\ 3\ \text{mg/g}$,RSD 为 1.42% 。

2.10 回收率试验:取桑姜感冒片(批号为 040516) $0.35\ \text{g}$,各 5 份,精密称定,分别精密加入 $6.078\ \mu\text{g/mL}$ 连翘苷对照品溶液 $20\ \text{mL}$,制备供试品溶液,测定,结果连翘苷的平均回收率为 98.9% ,RSD 为 1.47% 。

2.11 样品的测定:取桑姜感冒片 6 批样品,制备供试品溶液,测定,结果见表 1。

表 1 桑姜感冒片中连翘苷的测定结果 ($n=2$)

Table 1 Results of forsythingnin in Sangjiang Ganmao Tablets ($n=2$)

批号	连翘苷/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	批号	连翘苷/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
040204	0.42	040515	0.88
040205	0.60	040516	0.75
040514	0.80	040517	0.63

3 讨论

3.1 波长的选择:经紫外光谱扫描,连翘苷在 $277\ \text{nm}$ 和 $230\ \text{nm}$ 均有最大吸收。经对样品的高效液相色谱图进行对比,采用 $277\ \text{nm}$ 波长测定,无杂质干

扰,分离度符合规定,故选用 $277\ \text{nm}$ 为检测波长。

3.2 流动相的选择:文献报道采用乙腈-水(25:75)和甲醇-乙腈-水(12:18:70)为流动相,通过实验发现,后者较前者分离效果相对较好,能使连翘苷峰与杂质峰的分离度符合规定,故选用甲醇-乙腈-水(12:18:70)为流动相。

3.3 提取方法的选择:桑姜感冒片中药味较多,其他药味及连翘本身的其他成分对连翘苷的分析影响很大。连翘苷在甲醇、乙醇中有很好的溶解性,同时亦溶于醋酸乙酯、三氯甲烷、乙醚,采用液液萃取分离杂质效果不好。曾采用超声处理后直接进样分析、采用氧化铝柱分离后进样分析、采用醋酸铅沉淀分离杂质后进样分析,结果本品超声后直接进样分析时,干扰很大,前沿的杂质峰大,连翘苷峰远达不到基线分离。采用中性醋酸铅沉淀的方法,连翘苷可被沉淀裹加一同沉淀,使测定结果偏低。试验中分别选用氧化铝、聚酰胺、大孔吸附树脂柱处理的办法去除杂质,结果表明,单纯采用以上方法都存在一定的不足。采用中性氧化铝柱分离时,前沿杂质多,未达到基线分离。采用大孔吸附树脂柱处理后的样品,杂质明显降低,缩短了分析时间,但连翘苷峰前有一凸坡使连翘峰未达到基线分离。故选用大孔吸附树脂柱和氧化铝柱处理,可去除大多数杂质,连翘苷峰也分离到基线。同时,试验中摸索了不同体积分数甲醇作为洗脱液对测定的影响,结果表明,采用大孔树脂柱分离时,用 45% 甲醇 $40\ \text{mL}$ 洗脱,可去除前沿的大多数杂质,又不影响被测物质;继续采用 70% 甲醇 $40\ \text{mL}$ 洗脱时,可将被测物质洗脱下来。采用中性氧化铝柱分离时,用 70% 甲醇洗脱后,可除去凸坡的影响,达到基线分离。

HPLC 法测定复方咳嗽枇杷颗粒中甘草酸

李海燕¹, 黄能章²

(1. 佛山科技学院医学院,广东 佛山 528000; 2. 广东怡康制药有限公司,广东 广州 510520)

复方咳嗽枇杷颗粒处方含枇杷、桔梗、苦杏仁、甘草等药材,具有止咳平喘功效,用于上呼吸道感染的治疗。枇杷叶是方中君药,但无明显的定量测定指标;桔梗药材主要含总皂苷,但苦杏仁、甘草等均含

有苷类成分,对其构成干扰,缺少专属性;而甘草中含有甘草酸等成分,在方中无干扰成分,故本实验以甘草酸单胺盐为指标进行 HPLC 定量测定方法研究,以便更好地控制制剂质量。

收稿日期:2005-12-16

作者简介:李海燕(1974—),女,药学讲师,主要从事天然药物化学成分研究及中药制剂质量标准研究工作。