

为70%乙醇,用量为4倍树脂体积,体积流量3~4 mL/min;上柱总黄酮质量与树脂质量比为1:9.4,上柱液总黄酮质量浓度为17.86 mg/mL,体积流量2~3 mL/min;冲洗杂质用水体积2~3 BV,体积流量2~3 mL/min;上柱液pH值为4~5;径高比1.5/21.6,总黄酮回收率、质量分数均可达90%以上。

本研究表明上样总黄酮质量与树脂质量比、树脂柱内径与其柱高比是影响大孔吸附树脂吸附效果的因素之一。为保证吸附完全,实际生产中树脂质量应约大于上样总黄酮质量,以保证达到饱和吸附及吸附完全;而合适的径高比可为分离提供较高的柱效,从而更有利于大孔树脂的吸附和分离。在一定范围内,上样液质量浓度与吸附量呈明显的正相关关系,17.86 mg/L吸附量明显高于8.93 mg/L,适当提高上样液浓度有利于吸附。上样液浓度以分

离的目标产物千里光总黄酮计,可消除千里光药材产地、品种等不同造成的总黄酮的差异,有利于保证吸附及减少损失。随着吸附-洗脱次数的增加,残留在树脂上而不能被洗脱下来杂质会增加,使树脂吸附力减弱或丧失。因此使用一段时间后(4~5次),必须对树脂进行再生处理,以保证其吸附功能正常。

参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上册. 上海:上海科学技术出版社,1997.
- [2] 王浴生,邓文龙,薛春生. 中药药理与应用[M]. 北京:人民卫生出版社,2000.
- [3] 陈录新,李 宁,张 勉. 千里光的研究进展[J]. 海峡药学,2006,18(4):13.
- [4] 张文平,陈惠群,张文书,等. 千里光总黄酮的抗炎作用研究[J]. 时珍国医国药,2008,19(3):605.
- [5] 王晓林,钟方丽,张海娟. 清热散结片的制备工艺研究[J]. 吉林化工学院学报,2007,24(3):17.
- [6] 郁建生. 分光光度法测定复方草珊瑚注射液中总黄酮含量方法的探讨[J]. 中兽医医药杂志,2002(3):41.

HPLC 法测定克咳软胶囊中盐酸麻黄碱

董嘉德¹,戴德雄²,朱 莹²

(1. 浙江省绍兴县中心医院,浙江 绍兴 312030;2. 浙江维康药业有限公司,浙江 丽水 313000)

摘 要:目的 建立克咳软胶囊中盐酸麻黄碱的测定方法。方法 采用 HPLC 法,Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱(150 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:0.01 mol/L 磷酸二氢钾-甲醇-三乙胺(97:3:0.2,磷酸调 pH 值至 2.7);体积流量:1.0 mL/min;柱温:30 ℃;检测波长:210 nm;进样量:20 μL。结果 盐酸麻黄碱在 0.092~1.472 μg 与峰面积呈良好的线性关系,平均回收率 100.03%,RSD 为 0.86%。结论 该方法简便、灵敏、专属性强、重现性好,可作为克咳软胶囊的质量控制方法。

关键词:克咳软胶囊;盐酸麻黄碱;高效液相色谱

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2009)12-1915-03

克咳软胶囊是由麻黄、罂粟壳、甘草、苦杏仁等7味中药精制而成,具有止嗽、定喘、祛痰等功效,临床用于咳嗽,喘急气短等。其有效成分为盐酸麻黄碱、甘草酸等。为了有效地控制该产品的质量,本实验参考相关文献报道^[1,2],建立该软胶囊中盐酸麻黄碱的高效液相色谱测定方法,该法简便、准确、重现性好,可作为该制剂的质量控制方法。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 液相色谱仪,分析之星色谱工作站;Sartorius BP211D 电子天平(德国赛多利斯);JL-180DTH 超声波清洗器(上海杰理科技有限公司);盐酸麻黄碱对照品(批号 714-9903,中国药品生物制品检定所);克咳软胶囊由浙江维康药业有限

公司提供;甲醇为色谱纯(Fisher Chemicals),水为重蒸馏水,其余试剂为分析纯。

2 方法和结果

2.1 检测波长的选择:取盐酸麻黄碱对照品溶液在 200~400 nm 进行紫外扫描,由光谱图可见,盐酸麻黄碱在 210 nm 波长处有最大吸收,故试验选择 210 nm 作为检测波长。

2.2 色谱条件:Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱(150 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:0.01 mol/L 磷酸二氢钾-甲醇-三乙胺(97:3:0.2,磷酸调 pH 值至 2.7);体积流量:1.0 mL/min;柱温:30 ℃;检测波长:210 nm;进样量:20 μL。

2.3 溶液的配制

2.3.1 供试品溶液的制备:取克咳软胶囊10粒,倾出内容物,精密称定1.0 g,置具塞锥形瓶中,精密加盐酸水溶液50 mL,超声提取60 min(250 W, 25 kHz, 设定超声温度为35℃),取出放冷,摇匀,滤过,弃去初滤液,精密吸取续滤液10 mL,置分液漏斗中,加入浓氨试液1 mL,摇匀,用乙醚振摇提取数次,合并乙醚液,低温挥干,残渣加甲醇使溶解并转移至10 mL量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得。

2.3.2 对照品溶液的制备:取盐酸麻黄碱对照品适量,精密称定,加甲醇制成36.8 μg/mL的溶液,摇匀,即得。

2.3.3 阴性对照溶液的制备:取缺麻黄的药材按制备工艺制备克咳软胶囊,按供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。

2.4 方法专属性考察:按上述色谱条件分别对对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液进行分析,结果无干扰。见图1。

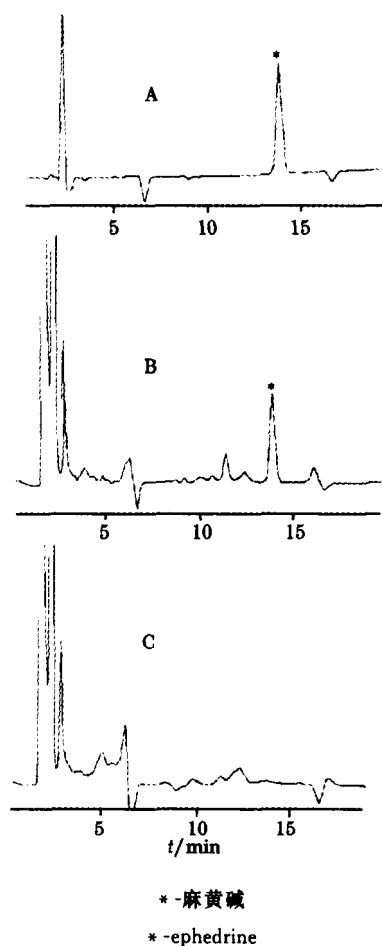


图1 盐酸麻黄碱对照品(A)、克咳软胶囊(B)和阴性对照(C)的HPLC图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of ephedrine hydrochloride reference substance (A), Keke Soft Capsula (B), and negative sample (C)

2.5 线性关系考察:精密称取盐酸麻黄碱对照品适

量,加甲醇制成不同质量浓度的对照品溶液,摇匀。分别精密进样10 μL,其进样量为0.092、0.184、0.368、0.736、1.104、1.472 μg,测定麻黄碱峰面积值。以进样量(X)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程: $Y=6\,556.9+1\times 10^6 X$, $r=0.999\,8$ 。结果表明,盐酸麻黄碱在0.092~1.472 μg与峰面积呈很好的线性关系。

2.6 精密度试验:取盐酸麻黄碱对照品溶液重复进样6次,测定盐酸麻黄碱的峰面积,计算得其RSD为1.01%。

2.7 重现性试验:取样品(批号20071201)6份,制备供试品溶液,进样测定盐酸麻黄碱,计算其RSD为0.64%。

2.8 稳定性试验:将供试品溶液(批号20071201)于室温下放置0、2、4、6、8、12 h,在色谱条件下测定,计算得盐酸麻黄碱的峰面积的RSD为1.69%。表明供试品溶液在12 h内稳定。

2.9 加样回收率试验:精密称取样品(批号20071201,含盐酸麻黄碱1.86 mg/g)适量,6份,分别精密加入盐酸麻黄碱对照品溶液适量,制备供试品溶液,按色谱条件项下测定,计算得平均回收率为100.3%,RSD为0.86%。

2.10 样品的测定:取6批样品,批号分别为20071201、20080101、20080103、20080201、20080202、20080203,制备供试品溶液,按上述色谱条件测定,以外标法计算样品中盐酸麻黄碱的质量分数,结果分别为1.12、0.94、1.00、1.07、1.04、1.10 mg/粒。

3 讨论

实验中曾选用0.01 mol/L的磷酸二氢钾-乙腈-三乙胺(100:5:0.2,磷酸调pH值至2.7)和0.01 mol/L的磷酸二氢钾-甲醇-三乙胺(97:3:0.2,磷酸调pH值至2.7)为流动相进行试验,结果均达到满意的分离效果,盐酸麻黄碱峰已达基线分离,峰形对称;缺麻黄阴性对照样品无干扰。实验最终选用0.01 mol/L的磷酸二氢钾-甲醇-三乙胺(97:3:0.2,磷酸调pH值至2.7)为流动相。

实验曾用Kromtek C₁₈(150 mm×4.6 mm,5 μm)及Zorbax SB-C₁₈(150 mm×4.6 mm,5 μm)柱,以0.01 mol/L的磷酸二氢钾-甲醇-三乙胺(97:3:0.2,磷酸调pH值至2.7)为流动相,两者均达到满意的分离效果,盐酸麻黄碱峰与相邻峰分离度大于1.5,理论塔板数以盐酸麻黄碱峰计算均大于2 000。最终选择Zorbax SB-C₁₈(150 mm×4.6 mm,5 μm)色谱柱。

对提取时间进行筛选,选择提取时间 45、60、75 min 进行考察,结果处理 45 min 所得的盐酸麻黄碱峰的量最低,60、75 min 时的量无差异,考虑到超声处理 60 min 提取时间较短,故最终选择超声处理 60 min。

参考文献:

- [1] 屈颖. 麻黄及其复方制剂中麻黄碱含量测定方法研究进展[J]. 天津药学, 2001, 13(6): 28-29.
- [2] 李霞, 贾晓斌, 陈彦, 等. 高效液相色谱法测定鼻舒宁喷雾剂中盐酸麻黄碱含量[J]. 中国医院药学杂志, 2006, 26(4): 494-496.

RP-HPLC 法测定肿节风饮片中异嗪皮啶和迷迭香酸

张小娟¹, 冯育林^{1,2*}, 刘海燕¹, 王跃生^{1,2}, 杨世林^{1,2}, 刘红宁²

(1. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西 南昌 330006; 2. 江西中医学院, 江西 南昌 330006)

摘要:目的 建立 RP-HPLC 法测定肿节风饮片中异嗪皮啶和迷迭香酸的方法。方法 采用 RP-HPLC 法, 迪马 Diamonsil™(钻石) C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1% 磷酸水溶液(23:77); 检测波长: 330 nm; 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温 25 ℃; 进样量: 10 μL。结果 异嗪皮啶在 0.015 9~0.796 2 μg 线性关系良好($r=0.999\ 9$), 平均回收率为 100.06%(RSD 为 1.52%); 迷迭香酸在 0.031 0~0.621 0 μg 线性关系良好($r=0.999\ 8$), 平均回收率为 99.99%(RSD 为 2.13%)。结论 该定量分析方法简便、准确、重复性好, 在同一色谱条件下可同时测定肿节风饮片中异嗪皮啶和迷迭香酸。

关键词: 肿节风; 异嗪皮啶; 迷迭香酸; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2009)12-1917-03

肿节风为金粟兰科植物草珊瑚 *Sarcandra glabra* (Thunb.) Nakai 的干燥全株, 主产于江西、浙江、安徽、广东、广西、四川、云南等地, 收载于《中国药典》2005 年版一部, 味苦、辛, 平, 具有清热凉血、活血消斑、祛风通络的功效, 用于血热紫斑、紫癜、风湿痹痛、跌打损伤等。肿节风资源丰富、功效显著, 其药材和饮片是许多《中国药典》及部颁成方制剂的处方药物, 被列入医保甲类品种和国家中药保护品种。肿节风主要含有香豆素(异嗪皮啶等)、有机酸(迷迭香酸、延胡索酸等)、倍半萜、黄酮和挥发油等类成分, 肿节风浸膏及其制剂具有抗菌、抗炎、止痛、抗肿瘤、对免疫功能的影响、对白细胞和血小板的影响、促进骨骼愈合等作用^[1~3]。其中异嗪皮啶具有抗菌、抗癌等作用^[3], 迷迭香酸具有明显的抗炎、抗氧化、免疫抑制、抗癌、抗血栓和抗血小板聚集等作用^[4]。因此本实验建立高效液相色谱法同时测定肿节风饮片中异嗪皮啶和迷迭香酸的方法, 为提高肿节风饮片的质量控制标准, 促进肿节风饮片进一步开发利用提供参考。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 Series 液相色谱仪, DAD 检测

器; AUW220D 十万分之一分析天平(日本岛津公司); KQ-250 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

异嗪皮啶对照品(批号: 110837-200304, 中国药品生物制品检定所); 迷迭香酸对照品(批号: 1189-071015, 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心对照品室); 甲醇、磷酸均为分析纯; 乙腈为色谱纯。

肿节风饮片(江西新干产, 批号: 080703; 广东产, 批号: 080726; 广西产, 批号: 080704)均由浙江中医药大学中药饮片厂提供, 经江西中医学院杨世林教授鉴定为金粟兰科植物草珊瑚 *S. glabra* (Thunb.) Nakai 的饮片。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验: 迪马 Diamonsil™(钻石) C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1% 磷酸水溶液(23:77); 检测波长: 330 nm; 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温 25 ℃; 进样量: 10 μL。理论塔板数按异嗪皮啶计算不低于 6 000, 两个成分与相邻色谱峰的分离度均大于 1.5, 见图 1。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取异嗪皮啶和迷迭

收稿日期: 2009-04-12

基金项目: 《中国药典》2010 版一部标准研究项目

作者简介: 张小娟(1979—), 女, 陕西杨凌人, 助理研究员, 主要从事中药新药研发工作。E-mail: xiaoxiao3333@sohu.com

* 通讯作者 冯育林 Tel: (0791) 7119631 E-mail: fengyulin2003@hotmail.com