

HPLC 法测定咽炎口含片中辛弗林的含量

徐 琰*,王 丽,宋 毅,唐 尧*(四川大学华西医院药剂科,成都市 610041)

中图分类号 R927.2;R283.64 文献标识码 A 文章编号 1001-0408(2007)21-1645-03

摘 要 目的:建立以高效液相色谱法测定咽炎口含片中辛弗林含量的方法。方法:色谱柱为 Diamonsil C₁₈(150mm×4.6mm, 5μm),流动相为甲醇-磷酸二氢钾水溶液(磷酸二氢钾 0.6g,十二烷基磺酸钠 1.0g,冰醋酸 1mL,加水至 1 000mL)=50:50,检测波长为 225nm。结果:辛弗林进样量在 0.245~2.450μg 范围内与峰面积积分值线性关系良好($r=0.999\ 5$);平均回收率为 93.49%,RSD=1.88%。结论:本方法准确、灵敏、重现性好、操作简便,可用于咽炎口含片的质量控制。
关键词 咽炎口含片;辛弗林;高效液相色谱法;含量测定

Determination of Synephrine in Yanyan Buccal Tablets by HPLC

XU Ting, WANG Li, SONG Yi, TANG Yao(Department of Pharmacy, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish HPLC method for determination of Synephrine in Yanyan buccal tablets. METHODS: The stationary phase was Diamonsil C₁₈(150mm×4.6mm, 5μm) column and the mobile phase was methanol-water (potassium dihydrogen phosphate 0.6g, sodium dodecylsulphate 1.0g, glacial acetic acid 1mL, add water to 1 000mL) = 50:50, and we set 225nm as detective wavelength. RESULTS: Within 0.245~2.450μg Synephrine had a good linearity($r=0.999\ 5$), the average recovery was 93.49% with RSD of 1.88%. CONCLUSION: The method is accurate, sensible, reproducible, simple and can be used in the quality control of Yanyan buccal tablets.
KEY WORDS Yanyan buccal tablets; Synephrine; HPLC; Content determination

咽炎颗粒为四川大学华西医院自制制剂,由夜交藤、枳实、散瘀,“仁斋直指方”以远志肉为末,吹之,涎出为度,治喉痹作
柏子仁、杭菊花、远志及淡竹叶组成。其中,远志宁心安神、祛痰
痛、失音;枳实化痰除痞、破气消积;菊花和淡竹叶清热泻火;柏

由图 6 可见,缺鬼针草阴性样品在 510nm 波长处也有紫
外吸收;文献报道玄参^[4]、淫苈^[5]中也含有少量黄酮类成分,说
明在降压益肾颗粒中总黄酮的专属性不强,故以制剂中的总黄
酮为含量测定指标。

2.2.6 样品及鬼针草药材含量测定:取 3 批样品及鬼针草药
材,按上述测定方法操作,测定吸光度,代入回归方程计算总黄
酮含量,结果详见表 2。

表 2 3 批样品及鬼针草药材的含量测定结果
Tab 2 Contents of samples (3 batches) and spanishneedles
herbs

测定对象	总黄酮含量/mg·g ⁻¹
样品(批号:060530)	8.249 1
样品(批号:060620)	6.802 6
样品(批号:060705)	7.534 3
鬼针草药材	6.174 4

2.2.7 重现性试验:精密吸取同一批样品(批号:060530)制
成的供试品溶液 1mL,共 5 份,按“2.2.6”项下方法操作。结果,
RSD=2.39%。

3 讨论

鬼针草为本方主药,其主要活性成分为黄酮类化合物^[6],
故应以其总黄酮含量为指标,建立含量控制方法。通过阴性试
验确认,缺鬼针草的阴性样品在样品测定条件下也有紫外吸

收,说明在降压益肾颗粒中总黄酮的专属性不强,故以制剂中
的总黄酮为含量测定指标,并建立了鬼针草药材中总黄酮的含
量测定方法,以有效控制该制剂的质量。

对于鬼针草的 TLC 鉴别,笔者曾尝试文献方法^[7]:取样
品,加甲醇超声提取,滤过,滤液作为供试品溶液,以石油醚-
丙酮(9:2)(A)、三氯甲烷-乙酸乙酯-甲酸(6:4:1)(B)为
展开剂,未获理想效果。经反复试验摸索,使用本文中的方法可
得到明显的鉴别斑点,重现性良好,阴性对照未见干扰。

参考文献

[1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典(一部)[S].
2005 年版. 北京:化学工业出版社,2005:122、20、76.
[2] 何正有,夏厚林,黄 洁. 黄芪复方颗粒质量标准的研究
[J]. 中成药,2004,26(11):886.
[3] 梁生旺. 中药制剂分析[M]. 北京:中国中医药出版社,
2003:385.
[4] 张建春,朱建美. 玄参的化学成分与药理活性研究进展
[J]. 山东医药工业,2003,22(1):25.
[5] 原思通. 医用中药饮片学[M]. 北京:人民卫生出版社,
2001:207.
[6] 陈礼明,徐维平. 鬼针草化学成分与药理作用概述[J].
基层中药杂志,1997,11(1):23
[7] 刘 圆,王 杰,彭镰心. 民族药鬼针草的生药学鉴定
[J]. 西南民族大学学报,2006,32(3):568.

(收稿日期:2006-10-08 修回日期:2007-02-06)

*主管药师,硕士。研究方向:医院药学。电话:028-85422664
#通讯作者:主任药师。研究方向:临床药学。电话:028-85422692

子仁润肠通便、养心安神;夜交藤祛风通络。该制剂经多年临床应用,治疗急、慢性咽炎疗效确切。笔者将其改剂型制成口含片,并采用高效液相色谱(HPLC)法,对咽炎口含片中臣药枳实的主要有效成分辛弗林的含量进行了测定。本方法准确、灵敏、重现性好、操作简便,可用于咽炎口含片的质量控制。

1 材料

1.1 仪器

高效液相色谱仪,包括 LC-10ATvp 溶剂输送泵、SPD-10Avp 紫外-可见检测器、UV-2401PC 分光光度计(日本岛津公司);pHS-4C 型酸度计(成都方舟科技开发公司);AEL-120 电子天平(湘仪天平仪器厂);AS3120 超声波清洗器(天津奥特赛恩斯仪器有限公司)。

1.2 试药

辛弗林对照品(供含量测定用,中国药品生物制品检定所,批号:110727-200306);咽炎口含片(四川大学华西医院自制);甲醇(色谱纯,美国 Tedia 公司);甲醇(分析纯,重庆川东化工集团有限公司化学试剂厂,供制备样品时用);磷酸二氢钾(分析纯,成都化学试剂厂);十二烷基磺酸钠(分析纯,广西西陇化工厂);冰醋酸(分析纯,重庆化学试剂总厂);聚酰胺(分析纯,中国石化股份有限公司巴陵分公司聚酰胺技术开发中心)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C₁₈(150mm×4.6mm, 5μm);流动相: 甲醇-磷酸二氢钾水溶液(磷酸二氢钾 0.6g, 十二烷基磺酸钠 1.0g, 冰醋酸 1mL, 加水至 1 000mL)=50:50;流速:0.9mL·min⁻¹;柱温:40℃;检测波长:225nm;进样量:10μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备:精密称取辛弗林对照品,加水配制成 245μg·mL⁻¹的对照品贮备液,加水稀释成 24.5μg·mL⁻¹的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备:精密称取咽炎口含片 3g,加 50mL 甲醇超声 30min,过滤,挥去甲醇,用 10mL 水溶解,过聚酰胺柱(60~90 目,5g,干法装柱),用 35mL 水洗脱,收集洗脱液,浓缩定容于 25mL 容量瓶中,摇匀,并用 0.22μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

2.2.3 阴性对照溶液的制备:用缺枳实的其余药材,按处方比例和工艺制成阴性制剂,按“2.2.2”项下方法制成阴性对照溶液。

2.3 系统适应性试验

分别取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 10μL,注入液相色谱仪,按“2.1”项下色谱条件记录色谱图。结果,辛弗林对照品的保留时间约为 18min;供试品色谱中辛弗林与杂质峰分离良好,分离度不低于 1.5,保留时间约为 18min,理论塔板数按辛弗林峰计算应不低于 3 500;阴性对照色谱在辛弗林相应位置上无干扰峰。色谱详见图 1。

2.4 线性关系考察

精密吸取 245μg·mL⁻¹的辛弗林对照品贮备液 1.0、2.0、4.0、6.0、8.0mL,分别置于 10mL 量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,按“2.1”项下色谱条件测定,将贮备液和 5 种稀释液各进样 10μL,以对照品进样量(X)为横坐标,峰面积积分值(Y)为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程为 Y=2 071 055X-37 180.1

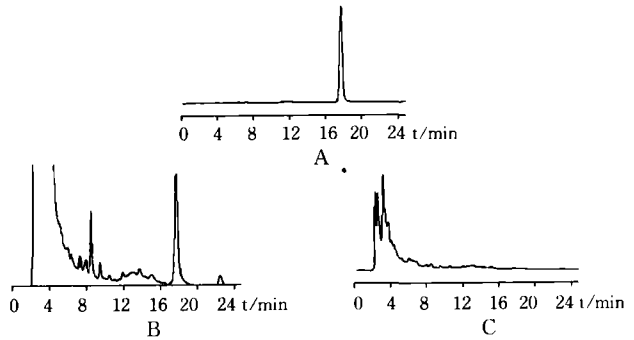


图 1 高效液相色谱
A. 辛弗林对照品;B. 咽炎口含片;C. 阴性对照

Fig 1 HPLC

A.Symplococarpine control substance;B.Yanyan buccal tablets;C.negative control

($r=0.999\ 5$)。结果表明,辛弗林进样量在 0.245~2.450μg 范围内与峰面积积分值呈良好线性关系。

2.5 精密度试验

取同一供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件重复进样 5 次。结果,辛弗林峰面积积分值的 RSD=0.41%($n=5$)。

2.6 稳定性试验

取供试品溶液,分别放置 0、4、8、16、24、48h 后,按“2.1”项下色谱条件进样,测定峰面积。结果,峰面积积分值的 RSD=0.92%,表明供试品溶液在 48h 内基本稳定。

2.7 重现性试验

取同一批号的咽炎口含片 5 份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样。结果,辛弗林含量的 RSD=1.19%($n=5$),表明本方法重现性良好。

2.8 加样回收率试验

精密称取 9 份已知含量的咽炎口含片 1.5g,每 3 份为一组,每组分别精密加入 245μg·mL⁻¹的辛弗林对照品 1.5、3.0、4.5mL,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样,计算加样回收率,结果详见表 1。

表 1 加样回收率试验结果

Tab 1 Results of recovery test

样品含量/μg	加入量/μg	测得量/μg	回收率/%	$\bar{x}$ /%	RSD/%
0.298	0.147	0.436	93.88	93.49	1.88
0.291	0.147	0.431	95.24		
0.295	0.147	0.437	96.60		
0.292	0.294	0.563	92.18		
0.297	0.294	0.575	94.56		
0.295	0.294	0.567	92.52		
0.301	0.441	0.708	92.29		
0.298	0.441	0.699	90.93		
0.291	0.441	0.702	93.20		

2.9 样品含量测定

取 3 批咽炎口含片样品(批号:060817、060823、060905),按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,按外标峰面积法计算样品中辛弗林的含量,结果详见表 2。

3 讨论

在制备供试品溶液时,笔者曾采用甲醇直接超声^[1],不过聚酰胺柱子,结果所得色谱图中整个基线很高,辛弗林峰与杂质峰没有分开;后来过聚酰胺柱子,进样后辛弗林峰与杂质峰分离良好。笔者还比较了甲醇回流提取和甲醇超声提取,结果

RP-HPLC 法测定乌垂舒肝胶囊中原儿茶酸的含量

董平^{1*}, 陈聪颖²(1. 复旦大学附属上海市公共卫生临床中心, 上海市 201508; 2. 上海交通大学医学院药物研究所, 上海市 200025)

中图分类号 R927.2; R283.65 文献标识码 A 文章编号 1001-0408(2007)21-1647-03

摘要 目的: 建立以反相高效液相色谱法测定乌垂舒肝胶囊中原儿茶酸含量的方法。方法: 色谱柱为 Diamonsil™ C₁₈ (250mm×4.6mm, 5μm), 流动相为甲醇-0.02%磷酸(15:85), 流速为 1.0mL·min⁻¹, 检测波长为 260nm, 柱温为 30℃。结果: 原儿茶酸进样量在 5.6~112ng 范围内与峰面积积分值呈良好线性关系($r=0.9999$); 平均回收率为 98.44%, RSD=2.98%。结论: 本方法简便、准确、专属性强、重现性好, 可用于乌垂舒肝胶囊的质量控制。

关键词 反相高效液相色谱法; 乌垂舒肝胶囊; 原儿茶酸; 含量测定

Determination of Protocatechuic Acid in Wuchuishugan Capsules by RP-HPLC

DONG Ping(Shanghai Public Health Clinical Center Affiliated to Fudan University, Shanghai 201508, China)

CHEN Congying(Institute of Pharmaceutical Research, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200025, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a RP-HPLC method for the determination of Protocatechuic acid in Wuchuishugan capsules. METHODS: The determination was performed on Diamonsil™ C₁₈ column(250mm×4.6mm, 5μm) with column temperature at 30℃. The mobile phase was methanol-0.02% H₃PO₄(15:85) with a flow rate of 1.0mL·min⁻¹. The detection wavelength was 260nm. RESULTS: The linear range of protocatechuic acid was 5.6~112ng($r=0.9999$), and its average recovery was 98.44%, RSD=2.98%. CONCLUSION: This method is simple, accurate, feasible and reproducible. It can be used for the quality control of Wuchuishugan capsules.

KEY WORDS RP-HPLC; Wuchuishugan capsules; Protocatechuic acid; Content determination

乌垂舒肝胶囊是由乌蕨、垂盆草、梔子、女贞子、郁金、白术等 6 味中药组成的复方制剂, 具有清热祛湿、舒肝理气的功效, 临床用于急性黄疸型和无黄疸型肝炎的治疗。乌蕨为方中君药, 是陵齿蕨科(又称陵始蕨科)乌蕨属植物^[1], 原儿茶酸是其有效成分之一。现代研究^[2]发现, 原儿茶酸对于 HepG2.2215 细胞系中的乙型肝炎病毒(HBV)复制有较强的抑制作用。由于乌

蕨及其制剂中原儿茶酸的含量测定尚未见文献报道, 故本文以反相高效液相色谱(RP-HPLC)法测定乌垂舒肝胶囊中原儿茶酸的含量, 并表明方法简便、准确、专属性强、重现性好, 可用于该制剂的质量控制。

1 材料

1.1 仪器

表 2 样品含量测定结果

Tab 2 Content determination results of samples

批号	取样量/g	辛弗林含量/mg·g ⁻¹	$\bar{x}$ /mg·g ⁻¹
060817	2.998 1	0.487	0.497
	2.901 5	0.513	
	2.890 6	0.492	
060823	2.908 9	0.523	0.521
	3.012 7	0.509	
	2.899 1	0.531	
060905	2.876 4	0.532	0.532
	2.987 3	0.525	
	2.987 1	0.538	

所测得含量基本一致, 故采用甲醇超声法, 简便、快速。

笔者曾采用乙腈-磷酸二氢钾水系统^[2], 发现辛弗林峰会产生分叉; 后改为甲醇-磷酸二氢钾水系统, 得辛弗林峰形对

称。在制备供试品溶液、过聚酰胺柱子时, 笔者分段收集了洗脱液, 结果在 35mL 以后就检测不出辛弗林的峰, 故采用 35mL 水洗脱。

2005 年版《中国药典》采用 275nm 为检测波长^[3], 笔者将辛弗林对照品溶液进行紫外扫描, 发现在 225nm 波长附近有一最大吸收, 且吸收值是 275nm 波长处的 6 倍, 故采用 225nm 为检测波长。

参考文献

- [1] 罗朝晖, 经辉. 反相离子对高效液相色谱法测定枳实中辛弗林的含量[J]. 中国药房, 2006, 17(19): 1503.
- [2] 王海凌, 侯团章. HPLC 法测定上海地区不同采摘期枳实中辛弗林的含量[J]. 山东中医药大学学报, 2004, 28(5): 377.
- [3] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 2005 年版. 北京: 化学工业出版社, 2005: 172.

(收稿日期: 2007-01-15 修回日期: 2007-04-03)

* 主管药师。研究方向: 医院药学。电话: 021-37990333-4345。
E-mail: donping@shaphc.org