

HPLC 测定除痰止咳丸中的桔梗皂苷 D、 桔梗皂苷 E、白花前胡甲素和白花前胡乙素

李红燕, 张蕊*, 冯晓川
(北京积水潭医院, 北京 100035)

[摘要] 目的: 采用高效液相色谱法测定除痰止咳丸(CTZSW)中桔梗皂苷 D、桔梗皂苷 E、白花前胡甲素和白花前胡乙素的含量。方法: Hypersil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 流动相乙腈-水(35:65)(桔梗皂苷 D 和桔梗皂苷 E), ELSD 漂移管温度 105 °C, 载气(N₂)流速 2.6 SLPM·min⁻¹; 流动相乙腈-甲醇-水(40:30:30)(白花前胡甲素和白花前胡乙素), 检测波长 321 nm。结果: 桔梗皂苷 D 和桔梗皂苷 E 分别在 0.041 3 ~ 0.826 0 μg ($r=0.999\ 7$), 0.079 7 ~ 1.594 0 μg ($r=0.999\ 8$) 进样量与峰面积呈良好的线性关系, 平均加样回收率分别为 98.32%, 98.94%, RSD ($n=6$) 分别为 0.80%, 0.93%; 白花前胡甲素和白花前胡乙素分别在 0.154 9 ~ 3.098 0 μg ($r=0.999\ 4$), 0.051 7 ~ 1.034 0 μg ($r=0.999\ 8$) 进样量与峰面积呈良好的线性关系, 平均加样回收率分别为 98.72%, 99.15%, RSD ($n=6$) 分别为 0.86%, 0.95%。结论: 该方法测定结果准确、灵敏、重复性好; 可用于除痰止咳丸的质量评价。

[关键词] 除痰止咳丸; 桔梗皂苷 D; 桔梗皂苷 E; 白花前胡甲素; 白花前胡乙素

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)02-0078-05

[doi] 10.11653/syfy2014020078

Determination of Platycodin D, Platycodin E, Praeruptorin A and Praeruptorin B in Chutan Zhisouwan by HPLC

LI Hong-yan, ZHANG Rui*, FENG Xiao-chuan
(Beijing Jishuitan Hospital, Beijing 100035, China)

[Abstract] **Objective:** To develop an HPLC method for determination of the content of platycodin D, platycodin E, praeruptorin A and praeruptorin B in Chutan Zhisouwan. **Method:** A Hypersil C₁₈ column was used as the chromatographic column. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. The mobile phase consisted of acetonitrile-water (35:65) for platycodin D and platycodin E, the temperature of drift tube was set at 105 °C; the gas flow (N₂) was set at 2.6 SLPM·min⁻¹. The mobile phase consisted of acetonitrile-methanol-water (40:30:30) for praeruptorin A and praeruptorin B, The UV detection wavelength was set at 321 nm. **Result:** Platycodin D and platycodin E were linear within the range of 0.041 3-0.826 0 μg ($r=0.999\ 7$) and 0.079 7-1.594 0 μg ($r=0.999\ 8$) respectively. The average recoveries were 98.32% (RSD 0.80%) and 98.94% (RSD 0.93%). Praeruptorin A and praeruptorin B were linear within the range of 0.154 9-3.098 0 μg ($r=0.999\ 4$) and 0.051 7-1.034 0 μg ($r=0.999\ 8$) respectively. The average recoveries were 98.72% (RSD 0.86%) and 99.15% (RSD 0.95%). **Conclusion:** The method was accurate, sensitive and reproducible, which may be used in the determination of platycodin D, platycodin E, praeruptorin A and praeruptorin B in CTZSW.

[Key words] CTZSW; platycodin D; platycodin E; praeruptorin A; praeruptorin B

[收稿日期] 20130320(017)

[基金项目] 北京博士后基金项目(2011M500494)

[第一作者] 李红燕, 主管药师, 从事中药质量管理研究, Tel:010-63728848, E-mail:lihongyanlunwen@163.com

[通讯作者] * 张蕊, 中药师, 从事中药制剂与医院药学研究, Tel:010-63728848, E-mail:zph1716@gmail.com

除痰止咳丸为中药复方制剂,源于卫生部药品标准中药成方制剂第二册,由桔梗、前胡、枳实、白术(麸炒)、陈皮、法半夏、浮海石(煨)、六神曲、防风、天花粉等18味药物组成,具有清肺降火、除痰止咳之功效,可用于肺热痰盛引起的咳嗽气逆、痰黄黏稠、咽喉疼痛、大便干燥等症的治疗^[1-2]。原质量标准仅对该品种进行了显微鉴别控制,未对方中的任何药味进行定性鉴别或定量测定。本文采用高效液相色谱法对桔梗中桔梗皂苷D、桔梗皂苷E和前胡中白花前胡甲素、白花前胡乙素进行含量测定方法研究,为完善该制剂质量标准提供依据。

1 材料

LC-10ATVP型高效液相色谱仪(包括SIL-10ADVP自动进样器,ANASTAR色谱数据工作站,SPD-10AVP型紫外-可见检测器,日本岛津),Alltech 2000ES型蒸发光散射器。桔梗皂苷D对照品(批号111851-201103),桔梗皂苷E对照品(批号111852-200101),白花前胡甲素对照品(批号111711-200602),白花前胡乙素对照品(批号111904-201102)均购于中国食品药品检定研究院;除痰止咳丸(每丸6g;批号130112,130120,130124)购于北京同仁堂股份有限公司同仁堂制药厂,甲醇、乙腈(色谱纯,安徽时联特种溶剂股份有限公司)。

2 方法与结果

2.1 桔梗皂苷D和桔梗皂苷E的含量测定^[3-6]

2.1.1 色谱条件及系统适应性 Hypersil C₁₈色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm),乙腈-水(35:65)为流动相,柱温室温,流速1.0 mL·min⁻¹,进样量10 μL,ELSD检测器检测参数,漂移管温度105℃,载气(N₂)流速2.6 SLPM·min⁻¹。理论塔板数以桔梗皂苷D计算不低于3 000。

2.1.2 对照品混合溶液的制备 精密称取桔梗皂苷D对照品和桔梗皂苷E对照品各适量,加70%甲醇制成对照品混合溶液(桔梗皂苷D为0.041 3 g·L⁻¹,桔梗皂苷E为0.079 7 g·L⁻¹)。

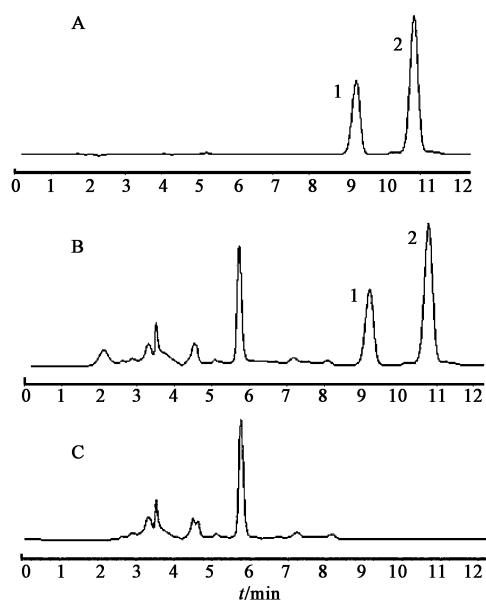
2.1.3 供试品溶液的配制 取本品适量,剪碎,混匀,取约4.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加70%甲醇50 mL,超声处理(250 W, 30 kHz) 20 min,用70%甲醇补足减失的质量,摇匀,过滤,精密量取续滤液25 mL,置水浴上蒸干,残渣加水15 mL溶解,溶液加于AB-8大孔树脂柱(10 mm × 120 mm)上,分别以水、35%乙醇洗脱,弃去洗脱液,再用70%乙醇洗脱,收集洗脱液,浓缩至干,残渣用70%甲醇溶

解,移至5 mL量瓶中,稀释至刻度,摇匀,用微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.1.4 阴性对照溶液的配制 取除桔梗的其余药味,按除痰止咳丸的前处理和制剂生产工艺制成缺桔梗的阴性样品,制成缺桔梗的阴性对照溶液。

2.1.5 线性关系考察 精密吸取对照品混合溶液1, 5, 10, 15, 20 μL,按上述色谱条件进行测定,以峰面积分值为纵坐标,桔梗皂苷D、桔梗皂苷E量为横坐标分别绘制标准曲线,得回归方程, $Y_{\text{桔梗皂苷D}} = 4.7238 \times 10^6 X - 3559.6$ ($r = 0.9997$), $Y_{\text{桔梗皂苷E}} = 2.7789 \times 10^6 X - 3646.0$ ($r = 0.9998$)。结果表明桔梗皂苷D在0.041 3~0.826 0 μg进样量与峰面积线性关系良好,桔梗皂苷E在0.079 7~1.594 0 μg进样量与峰面积线性关系良好。

2.1.6 阴性对照试验 分别精密吸取10 μL的供试品溶液、对照品溶液及阴性对照溶液,按2.1.1项的色谱条件进行色谱分析,结果见图1。



1. 桔梗皂苷D; 2. 桔梗皂苷E; A. 对照品; B. 样品; C. 阴性对照品

图2 桔梗皂苷D和桔梗皂苷E的HPLC

2.1.7 精密度试验 取对照品混合溶液重复进样6次,按2.1.1项的色谱条件测定桔梗皂苷D和桔梗皂苷E的峰面积,结果表明仪器具有良好的精密度,桔梗皂苷D和桔梗皂苷E的RSD分别为0.74%, 0.43%。

2.1.8 重复性试验 取同一批样品,按上述方法制备6份供试品溶液,分别测定其含量,桔梗皂苷D和桔梗皂苷E的RSD分别为0.45%, 0.91%,结果表明本方法具有良好的重复性。

2.1.9 稳定性试验 取同一供试品溶液,在放置

0, 1, 2, 4, 6, 8 h后精密吸取10 μL进样,测定其峰面积值,桔梗皂苷D和桔梗皂苷E的RSD分别为0.77%, 0.81%,供试品溶液8 h内基本稳定。

2.1.10 加样回收率试验 取已知含量(桔梗皂苷D含量0.1027 mg·g⁻¹、桔梗皂苷E含量0.1985 mg·g⁻¹)的同一批样品适量,剪碎,混匀,取约2.0 g,精密称定,分别精密加入对照品混合溶液5 mL,制成加样供试液。精密吸取加样供试液10 μL,按上述含量测定方法测定其峰面积,计算回收率,结果表明本方法回收率良好,见表1。

表1 桔梗皂苷D和桔梗皂苷E回收率试验

	样品中		加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
	称样量 /g	含量 /mg					
桔梗皂苷D	2.0415	0.2097	0.2065	0.4121	98.03	98.32	0.80
	1.9824	0.2036	0.2065	0.4046	97.34		
	1.9916	0.2045	0.2065	0.4084	98.72		
	2.0367	0.2092	0.2065	0.4107	97.59		
	2.0094	0.2064	0.2065	0.4109	99.05		
	2.0139	0.2068	0.2065	0.4117	99.21		
桔梗皂苷E	2.0415	0.4052	0.3985	0.8003	99.14	98.94	0.93
	1.9824	0.3935	0.3985	0.7894	99.35		
	1.9916	0.3953	0.3985	0.7902	99.09		
	2.0367	0.4043	0.3985	0.7917	97.22		
	2.0094	0.3989	0.3985	0.7929	98.88		
	2.0139	0.3998	0.3985	0.7981	99.96		

2.2 白花前胡甲素和白花前胡乙素的含量测定^[7-11]

2.2.1 色谱条件及系统适应性 Hypersil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相乙腈-甲醇-水(40:30:30), 流速1.0 mL·min⁻¹, 检测波长321 nm。在此条件下白花前胡甲素和白花前胡乙素与其他组分基线分离良好, 以白花前胡甲素计理论塔板数不低于3 000。

2.2.2 检测波长的选择 分别取白花前胡甲素和白花前胡乙素对照品适量, 加流动相溶解制成每1 mL含0.10 mg的溶液, 在200~400 nm波长处进行紫外扫描, 结果白花前胡甲素和白花前胡乙素对照品均在320 nm处有最大吸收, 参照《中国药典》(2010年版一部)前胡药材检验项下的检测波长321 nm, 故检测波长定为321 nm。

2.2.3 对照品混合溶液的制备 精密称取白花前胡甲素和白花前胡乙素对照品适量, 置100 mL量瓶中, 加甲醇溶解后稀释至刻度, 摇匀, 即得对照品混

合溶液(白花前胡甲素为0.1549 g·L⁻¹和白花前胡乙素0.0517 g·L⁻¹)。

2.2.4 供试品溶液的制备 取本品适量, 剪碎, 混匀, 取约3.0 g, 精密称定, 精密加入三氯甲烷25 mL, 称定质量, 超声(功率250 W, 频率35 kHz)处理30 min, 放冷, 再称定质量, 用三氯甲烷补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 蒸干, 残渣加甲醇溶解, 并转移至10 mL量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得供试品溶液。

2.2.5 阴性对照溶液的制备 取适量除前胡的其余药味, 按除痰止咳丸的前处理和制剂生产工艺制成缺前胡的阴性样品, 配制成缺前胡的阴性对照溶液。

2.2.6 线性关系考察 分别精密吸取对照品混合溶液1, 5, 10, 15, 20 μL, 按2.2.1项下的色谱条件进行测定, 以峰面积积分为纵坐标, 白花前胡甲素、白花前胡乙素量为横坐标分别绘制标准曲线, 回归方程 $Y_{\text{白花前胡甲素}} = 1.0881 \times 10^6 X + 1044.9$ ($r = 0.9994$), $Y_{\text{白花前胡乙素}} = 2.1003 \times 10^6 X - 657.3$ ($r = 0.9998$)。结果表明白花前胡甲素在0.1549~3.0980 μg进样量与峰面积线性关系良好, 白花前胡乙素在0.0517~1.0340 μg进样量与峰面积线性关系良好。

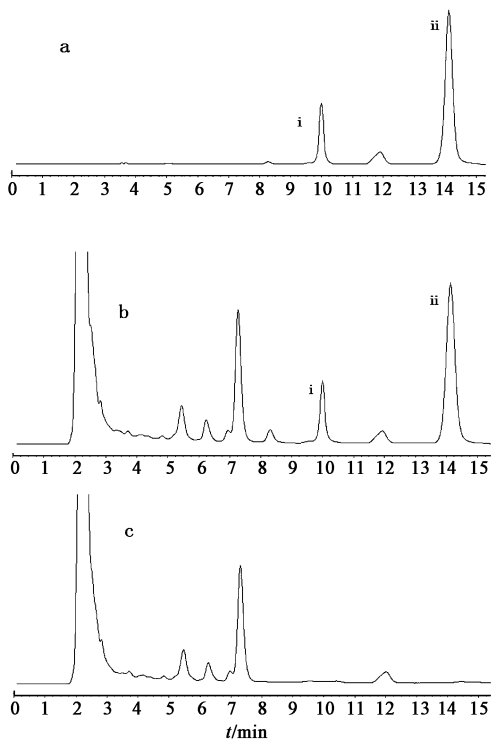
2.2.7 阴性对照试验 分别精密吸取10 μL的供试品溶液、对照品溶液及阴性对照溶液, 按2.2.1项的色谱条件进行色谱分析, 结果见图2。

2.2.8 稳定性试验 取同一供试品溶液, 在放置0, 1, 2, 4, 6, 8 h后精密吸取10 μL进样, 测定其峰面积值, 白花前胡甲素和白花前胡乙素RSD分别为0.59%, 0.43%, 表明供试品溶液8 h内基本稳定。

2.2.9 精密度试验 取对照品混合溶液重复进样6次, 按2.2.1项的色谱条件测定白花前胡甲素和白花前胡乙素的峰面积, 结果表明, 仪器具有良好的精密度, 白花前胡甲素和白花前胡乙素RSD分别为0.82%, 0.51%。

2.2.10 重复性试验 取同一批样品, 按上述方法制备6份供试品溶液, 分别测定其含量, 白花前胡甲素和白花前胡乙素RSD分别为0.76%, 0.49%, 表明本方法具有良好的重复性。

2.2.11 加样回收率试验 取已知含量(白花前胡甲素0.5145 mg·g⁻¹, 白花前胡乙素0.1728 mg·g⁻¹)的同一批样品适量, 剪碎, 混匀, 取约1.5 g, 精密称定, 分别精密加入对照品混合溶液5 mL, 制成加样供试液。精密吸取加样供试液10 μL, 按上述含量测定方法测定其峰面积, 计算回收率, 结果表明



a. 对照品; b. 样品; c. 阴性对照品;
i. 白花前胡乙素; ii. 白花前胡甲素

图2 白花前胡甲素和白花前胡乙素的 HPLC 图

表2 白花前胡甲素和白花前胡乙素回收率试验

成分	称样量 /g	样品中 含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
白花前 胡甲素	1.504 2	0.773 9	0.774 5	1.546 1	99.70	98.72	0.86
	1.498 7	0.771 1	0.774 5	1.528 3	97.77		
	1.504 9	0.774 3	0.774 5	1.543 2	99.28		
	1.510 3	0.777 0	0.774 5	1.539 9	98.50		
	1.492 5	0.767 9	0.774 5	1.524 7	97.72		
白花前 胡乙素	1.500 7	0.772 1	0.774 5	1.541 5	99.34		
	1.504 2	0.259 9	0.260 4	0.519 1	99.53	99.15	0.95
	1.498 7	0.259 0	0.260 4	0.517 4	99.24		
	1.504 9	0.260 0	0.260 4	0.513 6	97.37		
	1.510 3	0.261 0	0.260 4	0.520 1	99.51		
	1.492 5	0.257 9	0.260 4	0.518 7	100.15		
	1.500 7	0.259 3	0.260 4	0.517 3	99.07		

本方法回收率良好,见表2。

2.3 样品测定 取3批样品按2.1项下桔梗皂苷D和桔梗皂苷E测定方法和2.2项下白花前胡甲素和白花前胡乙素测定方法测定本品含量,结果见表3。

表3 除痰止咳丸中桔梗皂苷D,桔梗皂苷E,白花前胡甲素,白花前胡乙素含量测定

mg/丸

批号	桔梗皂苷 D			桔梗皂苷 E			白花前胡甲素			白花前胡乙素		
	含量	平均含量	RSD/%	含量	平均含量	RSD/%	含量	平均含量	RSD/%	含量	平均含量	RSD/%
130112	0.616	0.616	0.73	1.200	1.191	0.72	3.064	3.087	0.69	1.047	1.037	0.88
	0.612			1.190			3.091			1.029		
	0.621			1.183			3.106			1.035		
130120	0.637	0.642	0.87	1.123	1.129	0.53	3.224	3.210	0.49	1.127	1.126	0.81
	0.641			1.128			3.193			1.134		
	0.648			1.135			3.212			1.116		
130124	0.628	0.635	0.96	1.304	1.302	0.81	3.161	3.162	0.76	1.094	1.096	0.75
	0.636			1.291			3.139			1.089		
	0.640			1.312			3.187			1.105		

3 讨论

提取方式的选择考虑到制剂生产时检验的便捷性,采用超声(功率250 W,频率30 kHz)提取进行试验,提取时间分别以10,20,30 min进行考察,结果20,30 min结果相差不大,而提取10 min时含量明显低于20,30 min,因此桔梗皂苷D和桔梗皂苷E的超声提取时间定为20 min。

白花前胡甲素和白花前胡乙素测定时分别以甲

醇-水(75:25)、乙腈-水(70:30)和乙腈-甲醇-水(40:30:30)为流动相,结果甲醇-水(75:25)白花前胡甲素峰形良好,白花前胡乙素分离效果不好,未达到基线分离,乙腈-水(70:30)白花前胡甲素和白花前胡乙素两成分分离效果不佳,有拖尾现象,乙腈-甲醇-水(40:30:30)均能达到基线分离,峰形较好,故选用乙腈-甲醇-水(40:30:30)为流动相。

贵州糯米藤化学成分研究

韩贺东, 胡海清, 林燕, 李荣娇, 王晓玲*

(西南民族大学少数民族药物研究所, 成都 610041)

[摘要] 目的:研究贵州糯米藤 *Gonostegia hirta* 的化学成分。方法:利用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱、ODS 柱色谱等色谱技术对贵州糯米藤 95% 乙醇浸提物进行分离纯化,根据理化数据和波谱数据鉴定化合物的结构。结果:共分离得到 9 个化合物,分别鉴定为 β -谷甾醇(1)、 β -胡萝卜苷(2)、蔗糖(3)、表木栓醇(4)、木栓酮(5)、木栓烷(6)、齐墩果酸(7)、坡模酸(8)、常春藤苷元(9)。结论:所有化合物均为首次从贵州糯米藤植物中分离得到。

[关键词] 荨麻科; 糯米藤; 化学成分

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)02-0082-04

[doi] 10.11653/syfy2014020082

Chemical Constituents of *Gonostegia hirta*

HAN He-dong, HU Hai-qing, LIN Yan, LI Rong-jiao, WANG Xiao-ling*

(Ethnic Pharmaceutical Institute, Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, China)

[Abstract] **Objective:** To study the chemical constituents in the *Gonostegia hirta*. **Method:** The constituents were isolated by column chromatography and their structures were elucidated by physicochemical properties and spectroscopic analysis. **Result:** Nine compounds were isolated from the plant and identified as β -

[收稿日期] 20130326(027)

[基金项目] 西南民族大学研究生学位点建设项目(2013XWD-S0703)

[第一作者] 韩贺东,在读硕士,从事天然药物化学研究, Tel:15928078344, E-mail:190456123@qq.com

[通讯作者] *王晓玲,教授,博士,从事天然药物化学研究, Tel:13258159190, E-mail:wxl3232@sina.com

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010:259, 263, 附录 30, 附录 36.
- [2] 国家药典委员会. 国家药品标准中药成方制剂. 第 2 册[S]. 北京:人民卫生出版社, 1998:195.
- [3] 彭善贵,文永盛. HPLC-ELSD 法测定桔梗冬花片中桔梗皂苷 D 的含量[J]. 中国药师, 2012, 15(1):134.
- [4] 丁大勇,高菲,姚琳,等. HPLC-ELSD 法测定桑菊感冒片中桔梗皂苷 D 的含量[J]. 中国中医药信息杂志, 2012, 19(3):54.
- [5] 黄力,金传山,吴德玲. 不同干燥方法对桔梗中桔梗皂苷 D 含量的影响[J]. 安徽中医学院学报, 2010, 29(3):69.
- [6] 王菲,路丹,柳杨,等. 反相高效液相色谱法测定桔梗中 3 种三萜皂苷类化合物的含量[J]. 中南药学, 2011, 9(5):329.
- [7] 代丽萍,李汉伟,董诚明. HPLC 法测定不同产地白花前胡中白花前胡甲素的含量[J]. 中国中医药现代远程教育, 2010, 8(11):258.
- [8] 木书林,黄云先. 丽江家种和野生前胡的质量分析[J]. 中国药师, 2012, 15(12):1805.
- [9] 韩超. 高效液相色谱法测定白花前胡提取物中白花前胡甲素的含量[J]. 湖北中医药大学学报, 2011, 13(1):32.
- [10] 吴文玲,陈佳佳,刘守金,等. HPLC 同时测定前胡中 3 种香豆素成分的含量[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(9):1121.
- [11] 赵迪,周梯强,冯素香,等. HPLC-ELSD-UV 法同时测定氨酚那敏三味浸膏胶囊中桔梗冬青苷、白花前胡甲素、白花前胡乙素[J]. 中成药, 2012, 34(10):1908.

[责任编辑 顾雪竹]