

高效液相法测定婴儿止咳合剂中桔梗皂苷 D 的含量

曲建启, 潘西芬, 李以菊*

(山东省聊城市第二人民医院, 山东 临清 252601)

[摘要] 目的: 建立高效液相法测定婴儿止咳合剂中桔梗皂苷 D 含量的方法。方法: 以甲醇溶液提取婴儿止咳合剂中的桔梗皂苷 D, 采用十八烷基硅烷键合硅胶色谱柱; 流动相为乙腈-水 (25: 75), 流速 $0.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 蒸发光散射检测器检测, 波长 210nm, 柱温为 30°C 。结果: RP-HPLC-ELSD 的平均加样回收率为 98.99%, RSD% 为 0.37% ($n=6$)。结论: 该方法简便易行, 准确可靠, 可用于婴儿止咳合剂的质量控制。

[关键词] 婴儿止咳合剂; 桔梗皂苷 D; 反相高效液相色谱-蒸发光散射检测法

[中图分类号] R **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)23-0130-03

Determination of the Platycodin D in Ying'er Zhike Mixture Using High Performance Liquid Chromatography

QU Jian-qi, PAN Xi-fen, LI Yi-ju*

(The Second People's Hospital of Liaocheng City, Linqing 252601, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for the determination of the platycodin D in Ying'er Zhike

[收稿日期] 20120728(002)

[第一作者] 曲建启, 本科, 药师, 从事中药制剂及质量标准研究, Tel: 0635-2342361, E-mail: 13969536294@163.com

[通讯作者] * 李以菊, 硕士, 副主任药师, 从事中药制剂及质量标准研究, Tel: 0635-2342357, E-mail: 13562072699@163.com

(1H, d, $J = 5.0 \text{ Hz}$, H-5), 8.38 (1H, d, $J = 7.5 \text{ Hz}$, H-8), 8.10 (1H, d, $J = 5.5 \text{ Hz}$, H-4), 7.88 (1H, dd, $J = 8.5, 7.5 \text{ Hz}$, H-10), 7.73 (1H, s, H-3), 7.66 (1H, dd, $J = 7.5, 7.0 \text{ Hz}$, H-9), 4.08, 4.01 (6H, s, $\text{CH}_3\text{O}-1, 2$); $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ_c : 181.5 (C-7), 156.5 (C-6a), 152.0 (C-2), 144.7 (C-1), 144.4 (C-5), 135.2 (C-3a), 134.5 (C-10), 133.8 (C-11a), 131.6 (C-7a), 128.8 (C-11), 128.2 (C-9), 127.8 (C-8), 124.0 (C-4), 121.5 (C-1b), 118.3 (C-1a), 107.8 (C-3), 60.5, 56.5 ($\text{CH}_3\text{O}-1, 2$)。上述 NMR 数据与文献[8]报道一致, 确证该化合物为 lysicamine。

[参考文献]

- [1] 王向军. 两头毛中总黄酮提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(13): 50.
- [2] 张书伟, 张莉蓉. 两头毛水提物对衰老小鼠心、肝及肾组织中 MDA, GSH 和 SOD 含量的影响[J]. 郑州大学

学报: 医学版, 2011(5): 26.

- [3] 陶明, 刘洪. 利用微波消解-火焰原子吸收光谱法测定彝药“两头毛”中铁锌钙镁的研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(12): 4833.
- [4] 段文娟, 姜艳, 靳鑫, 等. 赤芍的化学成分研究[J]. 中国药物化学杂志, 2009, 19(1): 55.
- [5] ZAN Ke, CHEN Xiao-qing, FU Qiang, et al. Chemical ingredients isolated from the aerial part of *Artemisia anomala* [J]. Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences, 2010, 19(2): 95.
- [6] Katayama Y, Fukuzumi T. Formation of new acetal linkages in the metabolism of syringaresinol structure of lignin by *Coriolus versicolor*, FEMS Microbiol [J]. Lett, 1989, 58: 247.
- [7] 彭冰, 何春年, 许利嘉, 等. 三白草的化学成分研究[J]. 中草药, 2010, 41(12): 1950.
- [8] 王洪燕, 周先礼, 黄帅, 等. 凹叶厚朴中生物碱成分的研究[J]. 华西药理学杂志, 2007, 22(1): 30.

[责任编辑 邹晓翠]

Mixture using high performance liquid chromatography-evaporative light-scattering detector (RP-HPLC-ELSD).

Method: The RP-HPLC-ELSD separation was carried out on a C_{18} column with acetonitrile-water (25:75) as mobile phase at a flow rate of $0.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ at 30°C , and detected at 210 nm. **Result:** The mean recovery of platycodin D was 98.99%, and the relative standard deviation (RSD) was 0.37% ($n = 6$). **Conclusion:** The method is convenient, accurate and trustworthy, and could be used for quality control of the Ying'er Zhike Mixture.

[**Key words**] Ying'er Zhike Mixture; platycodin D; RP-HPLC-ELSD

婴儿止咳合剂系我院自制制剂(鲁药制字再H16080079),由氯化铵、桔梗流浸膏、吐根糖浆等成分组成。具有镇咳祛痰作用,适用于婴儿支气管炎等,收载于《中国医院制剂规范》西药制剂第二版,在我院临床应用情况良好。原制剂质量标准中无桔梗含量控制项,笔者采用高效液相法对药品中桔梗的主要成分桔梗皂苷 D 进行了含量测定,为其质量控制提供依据,以利于用药安全。

1 仪器、试剂与材料

Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国),蒸发光散射检测器(Grace ELSD 3300) Agilent Chemstation 化学工作站;SB3200 型超声清洗机(上海必能信超声有限公司);METTLER AE240 型电子天平(瑞士梅特勒公司);桔梗皂苷 D 对照品(批号 111851-201103,含量 96.9%)购自中国食品药品检定研究院;乙腈为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯,婴儿止咳合剂由本院制剂室提供(批号 20120211, 20120318, 20120412, 20120515, 20120529)。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备 精密称取标准品桔梗皂苷 D 对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含 $5 \mu\text{g}$ 的溶液,即得。

2.2 供试品溶液的制备 精密量取婴儿止咳合剂 20 mL,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,密塞,称定质量,超声处理(250 W, 40 kHz) 30 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失质量;摇匀,滤过,取续滤液,置于水浴上蒸干,残渣加水 20 mL,微热使溶解,用水饱和的正丁醇振摇提取 3 次,每次 20 mL,合并正丁醇液,用氨试液 50 mL 洗涤,弃去氨液,再用正丁醇饱和的水 50 mL 洗涤,弃去水液,正丁醇液蒸干,残渣加于硅胶柱上,先后以三氯甲烷-甲醇(9:1)混合溶液 50 mL、三氯甲烷-甲醇-水(60:20:3)混合溶液 100 mL、三氯甲烷-甲醇-水(60:29:6)混合溶液 100 mL 进行洗脱;收集最后的洗脱液,蒸干,残渣加甲醇溶解,转移至 5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,即得。

2.3 阴性对照品溶液的制备 按照婴儿止咳合剂的制备工艺制备缺桔梗流浸膏的阴性对照品,按 2.2 方法制成阴性对照品溶液。

2.4 色谱条件 Hypersil BDS C_{18} 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm, $5 \mu\text{m}$) (大连依利特公司),流动相乙腈-水(25:75),流速 $0.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,检测波长 210 nm,柱温 30°C ,进样量为 $10 \mu\text{L}$ 。

2.5 系统适用性试验 取对照品溶液、供试品溶液和阴性溶液,在上述色谱条件下分别进样 $10 \mu\text{L}$,记录色谱图。由桔梗皂苷 D 色谱图知:供试品溶液色谱中,在与对照品色谱峰相应位置上有一对应峰,而阴性溶液色谱中无此峰,说明阴性无干扰。在此条件下,桔梗皂苷 D 峰与样品中其他组分色谱峰可达基线分离,分离度 > 1.5 ;理论板数按桔梗皂苷 D 峰计算不低于 3000(图 1)。

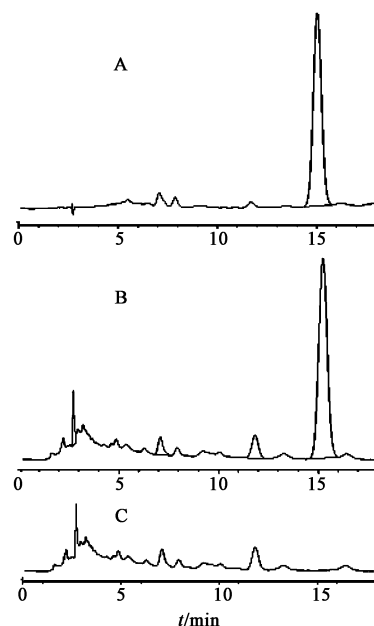


图 1 婴儿止咳合剂的 HPLC

2.6 线性关系考察 精密称取桔梗皂苷 D 对照品 12.09 mg,置 50 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备溶液。精密量取 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 5.0 mL,分别置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液,按上述色谱条

件分别进样 10 μL 测定。以桔梗皂苷 D 对照品进样量(μg)为横坐标(X),峰面积积峰值为纵坐标(Y)绘制标准曲线,得回归方程 $Y = 1.323 X + 14.342 (r = 0.999 6)$,线性范围 0.117 2 ~ 1.172 μg·mL⁻¹。

2.7 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液 10 μL,重复进样 6 次,测定桔梗皂苷 D 峰面积。结果表明,精密度良好,RSD 0.96% (n=6)。

2.8 稳定性试验 对同一供试品溶液(批号 20120318),于 0,2,4,6,8,10 h 依法测定,记录桔梗皂苷 D 峰面积,试验结果表明,在 10 h 内被测物稳定,RSD 0.43% (n=6)。

2.9 重复性试验 对同一批样品(批号 20120318),平行测定 6 份,计算桔梗皂苷 D 含量。结果平均含量为 5.060 mg·L⁻¹,RSD 1.08%,结果表明,重复性较好。

2.10 加样回收率试验 精密量取已知含量为 5.250 μg·mL⁻¹的样品(批号:20120412)10 mL,共 6 份,每份分别精密加入桔梗皂苷 D 对照品溶液 10 mL,按 2.2 项下方法制备 6 份加样回收样品溶液,测定,计算回收率。结果平均加样回收率为 98.97%,RSD 0.36%。见表 1。

表 1 桔梗皂苷 D 回收率试验

No.	样品含量 /μg	加入量 /μg	实测量 /μg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	26.25	25.00	50.62	98.79	98.99	0.37
2	26.25	25.00	50.75	99.02		
3	26.25	25.00	50.81	99.15		
4	26.25	25.00	50.46	98.45		
5	26.25	25.00	51.02	99.56		
6	26.25	25.00	50.73	98.98		

2.11 样品含量测定 取 5 批样品,按上述含量测定方法,测定桔梗皂苷 D 含量,结果平均含量为 5.06 mg·L⁻¹(见表 2)

表 2 桔梗皂苷 D 含量测定 mg·L⁻¹

No.	批号	含量	平均含量
1	20120211	5.107	5.076
2	20120318	5.066	
3	20120412	5.057	
4	20120515	5.070	
5	20120529	5.080	

3 讨论

桔梗具有祛痰镇咳、抗炎、降血糖、降血脂、镇痛、镇静镇痛解热、抗溃疡、抗肿瘤等广泛的药理活性^[1-3]。桔梗中主要有效成分为皂苷类,已发现的皂苷类成分近 40 种^[4]。桔梗皂苷 D 是桔梗发挥药理作用的重要物质基础之一,所以本试验选择采用 HPLC 法对桔梗皂苷 D 进行含量测定,为婴儿止咳合剂的质量控制提供依据。

参照《中国药典》和相关文献^[5-10],考察并优化了实验条件,建立了可靠的婴儿止咳合剂中桔梗皂苷 D 的含量测定方法。该方法灵敏度高、操作简便、准确、重现性好,可以为婴儿止咳合剂的生产提供科学的分析方法,使该制剂有了更好的质量标准保障机制。

[参考文献]

[1] 秦阳,侯建平,孟建国,等. 桔梗的药理学研究进展[J]. 现代中医药,2009,29(6):74.

[2] 张金艳,何萍,李貽奎. 苦杏仁、桔梗及二者配伍止咳、祛痰作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(18):174.

[3] 肖崇厚. 中药化学[M]. 上海:上海科技出版社,1995:321.

[4] 金在久. 桔梗的化学成分及药理和临床研究进展[J]. 时珍国医国药,2007,18(2):506.

[5] 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,附录 36.

[6] 梁娟,潘见,谢慧明,等. 桔梗提取物中桔梗皂苷 D 的反相高效液相色谱检测方法研究[J]. 时珍国医国药,2008,19(12):72.

[7] 龙芳. RP-HPLC-ELSD 法测定贝杏止咳膏中桔梗皂苷 D 的含量[J]. 中医药导报,2011,17(10):68.

[8] 李文庭,祝明,马临科,等. 桔梗的 HPLC-ELSD 指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(22):50.

[9] 黄樱,史春蕾,刘墨祥,等. HPLC-ELSD 法测定桔梗饮片中 8 种桔梗皂苷的含量[J]. 扬州大学学报(自然科学版),2008,11(4):43.

[10] 李伟,王梓,刘志,等. RP-HPLC 同时测定桔梗中去芹糖桔梗皂苷 D 与桔梗皂苷 D[J]. 中草药,2009,40(11):1824.

[责任编辑 顾雪竹]