

# 高效液相色谱法测定小儿清咽颗粒中哈巴俄昔的含量

方铁铮\*, 黎志坚, 谭银合

(广州星群药业股份有限公司, 广东 广州 510288)

[摘要] 目的: 建立小儿清咽颗粒中哈巴俄昔的含量测定方法。方法: 采用 HPLC 法, 色谱柱为 Dikma Diamasil C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水 (45: 55~ 70: 30, 0~ 40 min), 检测波长为 278 nm。结果: 哈巴俄昔在 2.944~ 88.32 μg·mL<sup>-1</sup> (r = 0.999 9) 的浓度范围内呈良好的线性关系, 哈巴俄昔的平均回收率为 100.5% RSD = 2.78% (n = 9)。结论: 该法操作简单, 结果准确, 可用于小儿清咽颗粒的质量控制。

[关键词] 小儿清咽颗粒; 哈巴俄昔; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)08-0020-03

## Determination of Harpagoside in Xiaerqingyan granule by HPLC

FANG Tie-zheng\*, LI Zhi-jian, TAN Yin-he

(Guangzhou Xingqun Pharmaceutical CO., Ltd, Guangzhou 510288, China)

[Abstract] **Objective:** To develop an HPLC method for the determination of harpagoside in Xiaerqingyan granule. **Method:** Samples were separated on a Dikma Diamonsil C<sub>18</sub> column with the mobile phase of methanol-water (45: 55~ 70: 30, 0~ 40 min) and the detection wavelength was set at 278 nm. **Result:** The calibration curve was linear in the range of 2.944~ 88.32 μg/ml (r = 0.999 9) for harpagoside. The average recovery was 100.5%, RSD = 2.78% (n = 9). **Conclusion:** The method is accurate and has good reproducibility. It can be used for quality control of Xiaerqingyan Keli.

[Key words] Xiaerqingyan granule; harpagoside; HPLC

小儿清咽颗粒是由玄参、蒲公英、牛蒡子(炒)等 9 味药材制备而成的颗粒剂, 具有清热解表, 解毒利咽, 用于小儿外感风热引起得发热头痛, 咳嗽音哑, 咽喉肿痛等病症, 原标准收载于部颁标准, 未有含量测定项, 不利于产品的质量控制。本实验对方药药材玄参中的哈巴俄昔进行含量测定试验研究, 为更好的监控和评价小儿清咽颗粒的质量提供科学依据<sup>[1]</sup>。

### 1 仪器、试剂与样品

高效液相色谱仪: 戴安 Dionex 高效液相色谱仪 (ASF-100 自动进样器、P680 四元梯度泵、UV-D170U

检测器; ODS 固相萃取小柱 (Chromabond (r), 德国 Macherey-Nagel, 3 mL·500 mg<sup>-1</sup>); 甲醇为色谱醇, 水为去离子水。哈巴俄昔对照品由中国生物制品检定所提供 (批号: 111T30-200603), 小儿清咽颗粒由广州星群(药业)股份有限公司生产。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱为 Dikma Diamasil C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (45: 55~ 70: 30, 0~ 40 min); 流速: 1 mL·min<sup>-1</sup>; 柱温: 室温; 检测波长: 278 nm; 进样量 20 μL。

**2.2 对照溶液制备** 取哈巴俄昔对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 含哈巴俄昔 30 μg 的溶液, 即得。

**2.3 供试品溶液制备** 取供试品约 5 g, 精密称定, 加甲醇 150 mL, 索氏回流 3~ 4 h 至回流液呈无色,

[收稿日期] 2008-12-15

[通讯作者] \* 方铁铮, Tel: (020) 84051762; E-mail: ftzxq@126.com

蒸干。残渣用 30% 甲醇 2 mL 溶解并转移至固相萃取小柱, 分别用 100 mL 水 5 mL 30% 甲醇、10 mL 甲醇依次进行洗脱, 收集无水甲醇洗脱液部分于 10 mL 量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 即得。

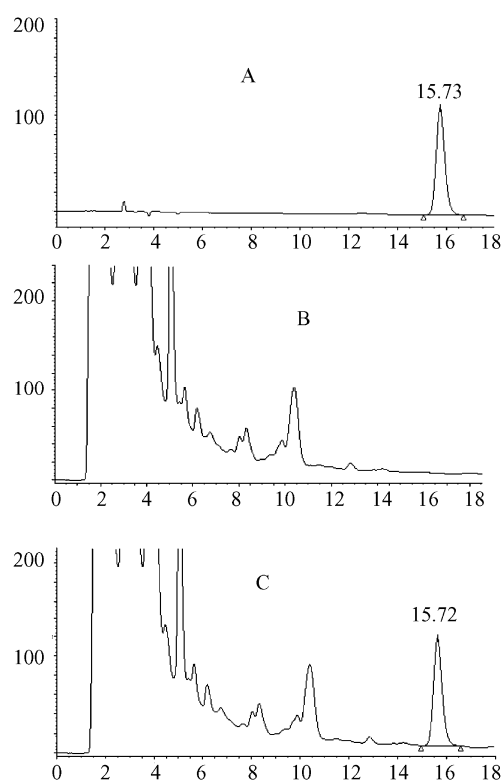


图 1 高效液相色谱图

A. 哈巴俄昔对照品; B. 阴性样品; C. 小儿清咽颗粒样品

**2.4 对照品溶液制备与线性考察** 精密称量哈巴俄昔对照品 14.72 mg, 用甲醇定容到 50 mL 量瓶中, 浓度为  $0.2944 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。准确吸取对照品溶液 1, 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30 mL 到 100 mL 量瓶中, 加甲醇定容, 各取 10  $\mu\text{L}$ , 按上述色谱条件, 注入高效液相仪, 测定。以峰面积积分值 A 与对照品的浓度 C ( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 进行回归分析, 得回归方程: 哈巴俄昔  $A = 38.448C - 0.1171$ ,  $r = 0.9999$ 。结果表明哈巴俄昔在  $0.02944 \sim 0.8832 \mu\text{g}$  范围线性关系良好。

**2.5 精密度试验** 精密吸取哈巴俄昔对照品溶液 (浓度为  $29.44 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 10  $\mu\text{L}$ , 按含量测定项下的色谱条件, 连续重复进样 6 次, 依法测定, 计算哈巴俄昔峰面积的相对标准偏差, 结果表明精密度好。

**2.6 供试品提取溶液稳定性试验** 取小儿清咽颗粒供试品溶液, 室温下分别放置 0, 3, 6, 8, 15, 24, 48 h 后, 按含量测定项下操作, 进样量为 10  $\mu\text{L}$ , 依法操作, 测定峰面积, 计算哈巴俄昔峰面积的相对标准偏差, 结果表明稳定性较好。

**2.7 重复性试验** 精密称取同一批号小儿清咽颗

粒样品 6 份, 按含量测定项下操作, 进样 20  $\mu\text{L}$ , 计算哈巴俄昔的含量及相对标准偏差, 结果表明方法的重复性较好。

**2.8 加样回收率试验** 精密称取已测知哈巴俄昔含量的小儿清咽颗粒适量, 再分别精密加入一定量的对照品, 使供试品溶液中的哈巴俄昔浓度分别在哈巴俄昔标准曲线的高、中、低区域各 3 份, 按样品测定项下操作, 依法测定, 计算回收率, 结果见表 1, 表明该方法回收率好。

表 1 小儿清咽颗粒加样回收率试验结果

No.	取样量 (g)	原有量 ( $\mu\text{g}$ )	加入量 ( $\mu\text{g}$ )	测得量 ( $\mu\text{g}$ )	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	1.07841	42.76	29.44	72.01	99.34		
2	1.07089	42.46	29.44	72.85	103.2		
3	1.16331	46.13	29.44	76.49	103.2		
4	2.51086	99.56	88.32	188.6	100.8		
5	2.50114	99.18	88.32	184.6	96.68	100.5	2.78
6	2.61286	103.6	88.32	188.5	96.08		
7	4.09563	162.4	147.2	308.8	99.43		
8	4.10755	162.9	147.2	314.3	102.9		
9	4.15398	164.7	147.2	316.2	102.9		

**2.9 样品测定结果** 照供试品溶液的制备方法操作, 精密吸取供试品溶液 20  $\mu\text{L}$ , 各进样两次, 依法测定, 结果见表 2。

表 2 小儿清咽颗粒中哈巴俄昔的含量测定结果

小儿清咽颗粒批号	哈巴俄昔含量 ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )	哈巴俄昔平均含量 ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )	哈巴俄昔总平均含量 ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )
DB21001	54.45	53.36	53.90
DB21002	54.93	55.39	55.16
DB21003	57.83	58.37	58.10
DB21004	60.89	61.10	60.99
DB21005	43.49	42.64	43.07
DB21006	57.03	57.68	57.35
DB21007	59.44	59.82	59.63
DB21008	58.80	59.05	58.93
DB21009	55.71	56.12	55.92
DB21010	53.02	50.95	51.98

### 3 讨论

本实验比较了甲醇-水、甲醇-1% 醋酸、甲醇-磷酸 (pH= 3.2)、乙腈-水、乙腈-磷酸盐-1% 四氢呋喃等多个流动相系统, 结果发现采用甲醇-水梯度洗脱水

哈巴俄苷与杂质能得到较好的分离。

现代药理研究表明,玄参中所含的哈巴俄苷成分具有抗慢性炎症、降压、镇痛、解痉、抗乙肝病毒以及免疫促进作用,最近又发现其与滋阴功效有密切相关的作用,且玄参为处方中的君药,与功能主治正相关,因此选择哈巴俄苷作为含量测定指标。本试

验表明,本法简便快捷,结果准确,可作为该产品质量控制的方法。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典[S]. 一部,北京:化学工业出版社,2005:76.