

HPLC 测定小儿智力糖浆中远志酸的含量

桂双英^{1,2*}, 潘君², 王均¹, 陈维金³, 施其海³

(1. 中国科技大学化学与材料科学学院, 安徽 合肥 230027; 2. 安徽中医学院, 现代中药安徽省工程技术研究中心, 安徽省现代中药研发产业创新团队, 安徽 合肥 230031; 3. 安庆汇达丰药业有限公司, 安徽 安庆 246001)

[摘要] 目的: 建立小儿智力糖浆中远志酸的含量测定方法。方法: HPLC 法, 采用 C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 0.5 μm); 流动相: 乙腈-0.2% 磷酸(40:60), 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 210 nm; 柱温: 30 °C。结果: 远志酸在 10.575 μg·mL⁻¹ ~ 211.5 μg·mL⁻¹ 范围内线性关系良好, r = 0.999 7, 平均回收率为 98.58%, RSD 为 1.52% (n = 6)。结论: 该法简便、准确、专属性强, 可用于小儿智力糖浆中远志酸的含量测定。

[关键词] 小儿智力糖浆; 远志酸; 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)06-0013-03

Determination of Polygalacic acid in Xiao'er Zhili Syrup by HPLC

GUI Shuang-ying^{1,2*}, PAN Jun², WANG Jun¹, CHEN Wei-jin³, SHI Qi-hai³

(1. University of Science and Technology of China, Hefei 230027, China; 2. Engineering and technology Centre of Modernized Chinese Medicine of Anhui Province, Research and Development innovative team of Anhui Province, Anhui College of TCM, Hefei 230031, China; 3. Huidafeng Pharmaceutical Co., LTD, Anqing 246001, China)

[Abstract] **Objective:** To develop an HPLC method for determination of polygalacic acid in Xiao'er Zhili Syrup. **Methods:** A C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 0.5 μm) was used with the mobile phase of acetonitrile-0.2% phosphoric acid (40:60), at the detection wavelength of 210 nm. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, and the temperature of column was 30 °C. **Results:** Polygalacic acid showed a good linear relationship at a range of 10.575 μg·mL⁻¹ ~ 211.5 μg·mL⁻¹, r = 0.999 7. The recovery and RSD was 98.58% and 1.52% (n = 6), respectively. **Conclusion:** The method is simple, accurate and specific. It can be used for determination of polygalacic acid in Xiao'er Zhili Syrup.

[Key words] Xiao'er zhili Syrup; polygalacic acid; HPLC

小儿智力糖浆收载于部颁标准中药成方制剂第八册, 是由远志、石菖蒲、雄鸡、龙骨、龟甲等药材经提取加工制成的中药复方制剂, 具有开窍益智, 调补心肾, 滋养安神等作用。临床用于心肾不足, 痰浊阻窍所致小儿多动, 少语, 烦躁不安, 神思涣散, 少寐健忘, 潮热盗汗; 儿童多动症见上述证候者的治疗, 疗

效确切。远志为方中主药, 并作为一味安神益智、祛痰、消肿的传统中药, 收载于《中国药典》2005 年版一部^[1]。远志中含有皂苷、香豆素、黄酮、生物碱等多类成分^[2], 现代研究表明皂苷为其主要活性成分^[3-5]。但目前尚无远志皂苷对照品, 《中国药典》2005 年版一部通过测定皂苷酸水解产物——远志酸的含量来控制远志药材质量。原小儿智力糖浆制剂标准中没有含量测定项, 不利于制剂质量的控制。本文摸索建立 HPLC 法测定小儿智力糖浆中远志酸的含量, 以便有效控制制剂质量。

1 材料

1.1 仪器 LC-10AT 高效液相色谱仪(日本岛津公

[收稿日期] 2008-09-18

[基金项目] 安徽省教育厅自然科学研究重点项目
(KJ2007A121ZC)

[通讯作者] * 桂双英, Tel: (0551) 5169044; E-mail: guishy0520@ yahoo. com. cn

司), SPD-10A VP 紫外检测器(日本岛津公司), 浙江大学 N2000 工作站(浙江大学); CP225D 电子分析天平(德国赛多利斯); AS3120 超声处理器。

1.2 试药 远志酸对照品(中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 批号: 1278-070315, 纯度大于 98%); 小儿智力糖浆(安庆汇达丰药业有限公司, 批号: 080615, 080617, 080619); 乙腈为色谱纯, 磷酸为分析纯, 水为重蒸馏水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: 大连依利特 (4.6 mm × 250 mm, 0.5 μm); 流动相: 乙腈-0.2% 磷酸(40: 60); 检测波长: 210 nm; 流速: 1.0 mL · min⁻¹; 灵敏度: 0.01AUFs; 柱温: 30 °C; 进样量: 20 μL。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取减压干燥至恒重的远志酸对照品 4.23 mg 置 10 mL 容量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得对照品储备液。精密量取对照品储备液适量制成每 1 mL 含远志酸 105.75 μg 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取本品 3 支(30 mL), 置分液漏斗中, 用水饱和正丁醇萃取 3 次(30, 20, 15 mL), 合并正丁醇液, 水浴蒸干, 取残渣, 加入 10% HCl 60 mL, 置水浴中水解 2 h, 滤过, 残渣以蒸馏水洗至中性。将残渣以甲醇溶解并转移至 50 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得供试品溶液。

2.4 专属性试验 取缺远志的阴性样品 3 支(30 mL), 置分液漏斗中, 照供试品溶液的制备方法配制远志阴性对照液, 精密吸取该阴性对照液、小儿智力糖浆以及远志酸对照品溶液各 20 μL, 按上述色谱条件进行测定, 结果阴性对照液在远志酸保留时间内无干扰峰出现, 证明本品中其它药材对远志的测定无干扰(见图 1)。

2.5 线性关系考察 分别精密量取不同体积的对照品储备液置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释制成浓度分别为 10.575, 21.15, 52.875, 105.75, 158.625, 211.5 μg · mL⁻¹ 的对照品溶液。分别吸取远志酸对照品溶液 20 μL, 按上述色谱条件, 测定峰面积, 以峰面积对远志酸浓度进行线性回归, 得回归方程为: $y = 8\ 082.8x - 555.74$, $r = 0.999\ 7$ 。结果表明, 远志酸在 10.575 μg · mL⁻¹ ~ 211.5 μg · mL⁻¹ 范围内线性关系良好。

2.6 精密度试验 精密吸取远志酸(105.75 μg · mL⁻¹) 对照品溶液, 按上述色谱条件重复进样 6 次,

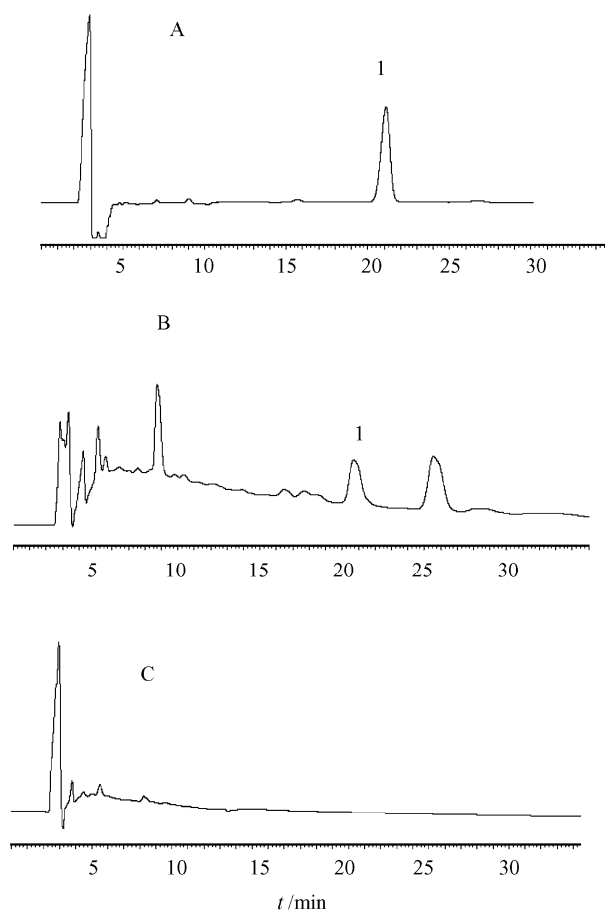


图 1 小儿智力糖浆 HPLC 图

A. 远志酸对照品; B. 小儿智力糖浆样品;
C. 阴性样品; 1. 远志酸

结果远志酸峰面积的 RSD 为 0.53%, 表明该方法精密度良好。

2.7 稳定性试验 取本品 3 支(30 mL), 按照供试品溶液制备方法制备样品溶液, 分别在 1, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样, 测定峰面积, 结果 RSD 为 1.02%。可知样品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.8 重复性试验 取同一批号(批号: 080615) 小儿智力糖浆 6 份, 每份 30 mL, 分别按供试品溶液的制备方法制备样品溶液, 分别进样 20 μL, 依法测定远志酸含量, RSD 为 0.62% ($n = 6$)。

2.9 加样回收试验 精密吸取已知含量的样品(取重复性项下的小儿智力糖浆, 批号: 080615) 6 份, 每份 15 mL, 各精密加入远志酸对照品溶液适量, 按供试品溶液制备方法制备样品溶液, 进高效液相色谱仪依法测定, 计算远志酸回收率, 结果加样回收率在 95.63% ~ 99.46% 之间, 平均加样回收率为 98.58%, RSD 为 1.52%, 结果见表 1。

2.10 样品测定 取 3 批次小儿智力糖浆样品, 按

(下转第 17 页)

(上接第 14 页)

表 1 远志酸加样回收率试验测定结果($n=6$)

| 取样量 (mL) | 样品含量 (mg) | 加入量 (mg) | 测得量 (mg) | 回收率 (%) | 平均回 收率(%) | RSD (%) |
|-------------|--------------|-------------|-------------|------------|--------------|------------|
| 15 | 1.461 | 1.487 | 2.937 | 99.26 | | |
| 15 | 1.461 | 1.487 | 2.940 | 99.46 | | |
| 15 | 1.461 | 1.487 | 2.883 | 95.63 | 98.58 | 1.52 |
| 15 | 1.461 | 1.487 | 2.939 | 99.39 | | |
| 15 | 1.461 | 1.487 | 2.924 | 98.39 | | |
| 15 | 1.461 | 1.487 | 2.938 | 99.33 | | |

供试品溶液制备方法处理后依法测定,以外标法计算样品中远志酸的含量,结果分别为:110.87, 103.81, 107.02 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

3 讨论

在供试品溶液制备时,关键是远志皂苷的提取及水解完全。本实验对远志皂苷提取方法进行了摸索,分别采用水饱和正丁醇萃取、乙酸乙酯萃取、过 D101 大孔吸附树脂柱等方法比较研究,结果各方法远志皂苷的提取率:水饱和正丁醇萃取法> 乙酸乙酯萃取法> 大孔树脂吸附法,其中水饱和正丁醇萃取率高且稳定。因此,本文选用水饱和正丁醇萃取法。

本实验对远志皂苷水解条件进行了优选,分别考察了不同水解时间(2, 3, 4 h)、不同 HCl 用量(40, 60, 80 mL)对水解的影响,结果以每 30 mL 小儿智力糖浆加 60 mL HCl 水解 2 h 为最佳。

流动相选择时,对甲醇-水、甲醇-水(含磷酸)、乙腈-水、乙腈-水(含磷酸)等流动相的系统组成和比例进行了研究比较,结果甲醇-水、乙腈-水的一系列比例均未检出远志酸;选用甲醇-0.2% 磷酸时,远志酸与后一未知峰不能很好分离,不能达到理想的分离度;选用乙腈-0.2% 磷酸时,通过一系列不同比例比较分析,40:60 分离效果较好。因此选择乙腈-0.2% 磷酸(40:60)为流动相,分离效果理想。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005: 107.
- [2] 李 军, 姜 勇, 屠鹏飞. 密花远志的化学成分研究(II) [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(1): 45.
- [3] 傅晶, 张东明, 陈若芸. 远志属植物的皂苷类成分及其药理作用研究进展[J]. 中草药, 2006, 37(1): 144.
- [4] 彭汶铎, 许实波. 四种远志皂苷的镇咳和祛痰作用[J]. 中国药学杂志, 1998, 33(8): 491.
- [5] Nikaido T., Ohnoto T., Saitoh H., *et al.* Inhibition of cyclic adenosine monophosphate phosphodiesterase in *Polygala tenuifolia* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1982, 30(6): 2020.