

- Hepatoprotective constituents of *Torilis radiata* Moench (Apiaceae) [J]. Nat Prod Res, 2012, 26(3): 282-285.
- [12] ROLLINGER J M, HORNICK A, LANGER T, et al. Acetylcholinesterase inhibitory activities of scopletin and scopoletin discovered by virtual screening of natural products [J]. J Med Chem, 2004, 47(25): 6248-6254.
- [13] YI Z B, ZENG B, LAI X P. Determination of scopoletin in *Lycium barbarum* L. by HPLC [J]. Asia-Pacific Tradit Med(亚太传统医药), 2010, 6(4): 13-15.
- [14] XU F, WANG X Z, ZHANG L, et al. Determination of scopoletin and scopolin in *Lycium barbarum* by HPLC [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2012, 18(13): 67-70.
- 收稿日期: 2014-07-02

HPLC 同时测定玉叶金花清热片中 3 种有效成分的含量

唐德智(广西南宁食品药品检验所, 南宁 530001)

摘要: 目的 建立同时测定玉叶金花清热片中栀子苷、穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯含量的 HPLC。方法 采用 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.2%磷酸水溶液, 梯度洗脱, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长: 238 nm(0~10 min, 栀子苷), 225 nm(10~22 min, 穿心莲内酯), 254 nm(22~35 min)。结果 栀子苷在 0.166~2.981 μg 内线性关系良好($r=0.999\ 9$), 平均回收率为 99.4%(RSD=1.2%); 穿心莲内酯在 0.146~2.621 μg 内线性关系良好($r=0.999\ 9$), 平均回收率为 99.2%(RSD=1.3%); 脱水穿心莲内酯在 0.222~3.992 μg 内线性关系良好($r=0.999\ 7$), 平均回收率为 100.1%(RSD=1.4%)。结论 该方法简便、快捷、准确, 可用于该制剂的质量控制。

关键词: 玉叶金花清热片; 栀子苷; 穿心莲内酯; 脱水穿心莲内酯; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2015)04-0486-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.04.025

Determination of Three Effective Components in Yuyejinhua Qingre Tablets by HPLC

TANG Dezhi(Guangxi Nanning Institute for Food and Drug Control, Nanning 530001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To simultaneously determine geniposide, andrographolide and dehydroandrographolide in Yuyejinhua Qingre tablets by HPLC. **METHODS** Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (4.6 mm×150 mm, 5 μm) column was used. The mobile phase was methanol-water containing 0.2% phosphoric acid with gradient elution mode at the flow rate of 1.0 mL·min⁻¹; the detection wavelength was 238 nm(0–10 min) for geniposide, 225 nm(10–22 min) for andrographolide and 254 nm(22–35 min) for dehydroandrographolide. **RESULTS** Geniposide had a good linearity in the range of 0.166–2.981 μg, the average recovery was 99.4% with RSD of 1.2%. Andrographolide had a good linearity in the range of 0.146–2.621 μg, the average recovery was 99.2% with RSD of 1.3%. Dehydroandrographolide had a good linearity in the range of 0.222–3.992 μg, the average recovery was 100.1% with RSD of 1.4%. **CONCLUSION** The method is simple, accurate and reproducible, and can be used for quality control of Yuyejinhua Qingre tablets.

KEY WORDS: Yuyejinhua Qingre tablets; geniposide; andrographolide; dehydroandrographolide; HPLC

玉叶金花清热片是由玉叶金花、穿心莲、栀子、倒扣草、玄参、人工牛黄等 6 味中药制成的中药制剂, 具有清热解毒, 利咽消肿的功效, 用于急性咽喉炎属风热症者, 症见咽痛, 咽干灼热, 咽黏膜、悬雍垂红肿, 咽后壁淋巴滤泡等。制剂中的主要活性成分栀子苷、穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯的含量测定已有文献报道^[1], 但对 3 种活性成分同时进行测定尚无文献报道。本试验采用

高效液相色谱波长切换法, 达到同时测定玉叶金花清热片中栀子苷、穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯 3 种活性成分的目的。该方法灵敏度高, 专属性强, 操作简便, 可用于该制剂的质量标准。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters 2695 高效液相色谱仪, 2489UV 检测器(美国 Waters 公司); UV-2550 型紫外可见分光光

作者简介: 唐德智, 男, 副主任中药师 Tel: (0771)3906191

E-mail: tangdz7497@163.com

度计(日本岛津公司); KQ-500DV 型数控超声波清洗器(江苏昆山市超声仪器有限公司); AE240 型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

1.2 试药

栀子苷对照品(批号: 110749-200714, 纯度: 100%)、穿心莲内酯对照品(批号: 110797-200307, 纯度: 100%)和脱水穿心莲内酯对照品(批号: 110854-201007, 纯度: 100%)均购于中国食品药品检定研究院; 玉叶金花清热片(广西纯正堂制药厂, 批号: 20130512, 20130715, 20130926, 20131028, 20131112, 规格: $0.4\text{ g}\cdot\text{片}^{-1}$); 甲醇为色谱纯, 磷酸为色谱纯, 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Agilent ZORBAX SB- C_{18} ($4.6\text{ mm}\times 150\text{ mm}$, $5\text{ }\mu\text{m}$); 流动相 A 为甲醇, 流动相 B 为 0.2% 磷酸。梯度洗脱: 0~9 min, 28%A; 9~13 min, 28%A→52%A。检测波长: 0~10 min, 238 nm; 10~22 min, 225 nm; 22~35 min, 254 nm。流速: $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 柱温: $30\text{ }^{\circ}\text{C}$; 进样量: $10\text{ }\mu\text{L}$ 。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液制备 分别精密称取干燥至恒重的栀子苷、穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯对照品各适量, 置同一 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 配制成 1 mL 含栀子苷 $331.2\text{ }\mu\text{g}$ 、穿心莲内酯 $291.2\text{ }\mu\text{g}$ 、脱水穿心莲内酯 $443.6\text{ }\mu\text{g}$ 的混合对照品储备溶液, 备用。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品内容物, 混匀, 取 1 g , 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL , 称定重量, 浸渍 30 min , 超声处理 30 min , 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 微孔滤膜($0.45\text{ }\mu\text{m}$)滤过, 即得。

2.2.3 阴性样品溶液的制备 按处方比例及工艺分别制备缺栀子、穿心莲药材的阴性样品, 再按“2.2.2”项下方法制备阴性样品溶液。

2.3 方法学考察

2.3.1 专属性试验 分别精密吸取供试品溶液、阴性样品溶液和混合对照品溶液的稀释液各 $10\text{ }\mu\text{L}$, 按“2.1”项下色谱条件, 注入液相色谱仪, 记录液相色谱图, 结果见图 1。由色谱图可见, 在与对照品色谱峰相应的位置上, 有相同保留时间的色谱峰, 阴性样品对测定无干扰。

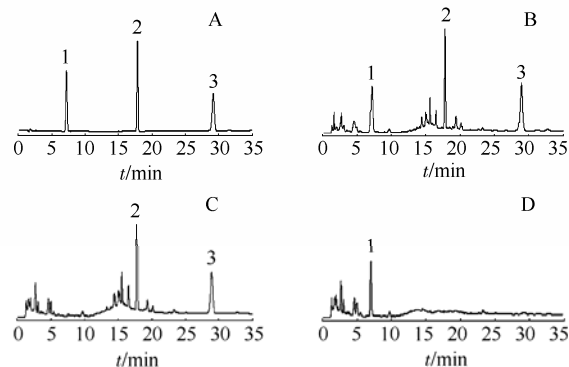


图 1 高效液相色谱图

A—混合对照品; B—供试品; C—缺栀子阴性样品; D—缺穿心莲阴性样品; 1—栀子苷; 2—穿心莲内酯; 3—脱水穿心莲内酯。

Fig. 1 HPLC chromatograms

A—mixed substances; B—sample; C—negative sample without Gardeniae Fructus; D—negative sample without Andrographis Herba; 1—geniposide; 2—andrographolide; 3—dehydroandrographolide.

2.3.2 线性关系考察 精密吸取“2.2.1”项下混合对照品储备溶液 $0.5, 1.0, 3.0, 5.0, 7.0, 9.0\text{ mL}$ 分别置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 制成系列浓度混合对照品溶液, 取上述对照品溶液各 $10\text{ }\mu\text{L}$ 注入液相色谱仪, 记录峰面积。以进样量 $X(\mu\text{g})$ 为横坐标, 峰面积 (Y) 为纵坐标, 进行线性回归, 绘制标准曲线。栀子苷回归方程: $Y=1.89\times 10^5 X+3.5\times 10^3$, $r=0.9999$, 穿心莲内酯回归方程: $Y=3.16\times 10^5 X+7.42\times 10^3$, $r=0.9999$, 脱水穿心莲内酯回归方程: $Y=5.97\times 10^4 X+6.43\times 10^2$, $r=0.9997$ 。结果表明栀子苷在 $0.166\sim 2.981\text{ }\mu\text{g}$ 、穿心莲内酯在 $0.146\sim 2.621\text{ }\mu\text{g}$ 、脱水穿心莲内酯在 $0.222\sim 3.992\text{ }\mu\text{g}$ 内与峰面积呈良好的线性关系。

2.3.3 仪器精密度试验 精密吸取“2.3.2”项下中间浓度的混合对照品溶液(栀子苷、穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯浓度分别为 $155.6, 145.6, 221.8\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), 按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 每次 $10\text{ }\mu\text{L}$, 记录色谱峰峰面积, 结果栀子苷、穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯峰面积的 RSD 分别为 $0.9\%, 1.1\%, 0.7\%$ 。

2.3.4 稳定性试验 取同一供试品溶液(批号: 20130926), 按“2.1”项下色谱条件, 分别于 $0, 2, 4, 8, 12, 24\text{ h}$ 进样分析, 记录色谱峰面积, 结果表明栀子苷、穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯峰面积的 RSD 分别为 $1.3\%, 1.8\%, 1.7\%$, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.3.5 重复性试验 称取同一批样品(批号: 20130926) 1 g , 平行称取 6 份, 按“2.2.2”项下方

法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件测得
 栀子苷平均含量为 8.21 mg·g⁻¹, RSD 为 1.3%; 穿
 心莲内酯平均含量为 7.18 mg·g⁻¹, RSD 为 1.2%,
 脱水穿心莲内酯平均含量为 11.05 mg·g⁻¹, RSD 为
 1.3%。

2.3.6 加样回收率试验 精密称取已知含量的同
 一批号样品(批号: 20130926)约 0.5 g, 平行称取 9
 份, 置具塞锥形瓶中, 分别加入栀子苷、穿心莲
 内酯和脱水穿心莲内酯对照品适量, 按“2.2.2”
 项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条
 件计算回收率。结果见表 1~3。

表 1 栀子苷加样回收率试验结果(n=9)

Tab. 1 Results of recovery test of geniposide(n=9)

称样量/ g	样品量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
0.501 9	4.121	3.277	7.355	98.7	99.4	1.2
0.502 6	4.126	3.277	7.336	98.0		
0.503 8	4.136	3.277	7.362	98.4		
0.503 5	4.134	4.096	8.283	101.3		
0.502 3	4.124	4.096	8.168	98.7		
0.502 7	4.127	4.096	8.199	99.4		
0.501 3	4.116	4.915	8.949	98.3		
0.501 6	4.118	4.915	9.054	100.4		
0.503 2	4.131	4.915	9.074	100.6		

表 2 穿心莲内酯加样回收率试验结果(n=9)

Tab. 2 Results of recovery test of andrographolide(n=9)

称样量/ g	样品量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
0.501 9	3.604	2.861	6.418	98.4	99.2	1.3
0.502 6	3.609	2.861	6.446	99.2		
0.503 8	3.617	2.861	6.488	100.4		
0.503 5	3.615	3.576	7.108	97.7		
0.502 3	3.607	3.576	7.224	101.2		
0.502 7	3.609	3.576	7.141	98.8		
0.501 3	3.599	4.291	7.791	97.7		
0.501 6	3.601	4.291	7.917	100.6		
0.503 2	3.613	4.291	7.849	98.7		

表 3 脱水穿心莲内酯加样回收率试验结果(n=9)

Tab. 3 Results of recovery test of dehydroandrographolide
(n=9)

称样量/ g	样品量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
0.501 9	5.546	4.421	10.019	101.2	100.1	1.4
0.502 6	5.554	4.421	9.941	99.2		
0.503 8	5.567	4.421	9.972	99.6		
0.503 5	5.564	5.526	11.198	102.0		
0.502 3	5.550	5.526	11.201	102.3		
0.502 7	5.555	5.526	11.053	99.5		
0.501 3	5.539	6.631	12.087	98.7		
0.501 6	5.543	6.631	12.071	98.5		
0.503 2	5.560	6.631	12.160	99.5		

2.3.7 样品测定 取 5 批玉叶金花清热片, 按
 “2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 每批平行制
 备 3 份, 按“2.1”项下色谱条件测定, 每份样品
 重复测定 2 次, 以外标法计算样品中栀子苷、穿
 心莲内酯和脱水穿心莲内酯含量, 结果见表 4。

表 4 样品含量测定结果(n=3)

Tab. 4 Results of content determination (n=3)

批 号	栀子苷/ mg·g ⁻¹	RSD/ %	穿心莲内 酯/mg·g ⁻¹	RSD/ %	脱水穿心莲 内酯/mg·g ⁻¹	RSD/ %
20130512	8.06	1.2	6.94	1.1	10.83	0.9
20130715	8.17	1.1	7.06	1.2	10.97	1.0
20130926	8.21	1.3	7.18	1.2	11.05	1.3
20131028	7.98	1.1	6.98	1.0	11.18	1.1
20131112	8.37	1.2	7.24	1.2	11.09	0.9

3 讨论

在玉叶金花清热片 3 种有效成分测定过程中,
 供试品溶液制备方法分别考察了不同浓度乙醇、
 甲醇等溶剂进行超声提取, 结果以甲醇超声提取
 效率较好。同时比较超声提取法与回流法, 试验
 结果表明, 超声提取法提取的含量高于回流法提
 取的量, 故选择超声提取法制备供试品溶液。

取栀子苷、穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯对
 照品溶液, 置 UV-2550 紫外可见分光光度计下扫
 描, 结果栀子苷在 238 nm 处有最大吸收, 穿心莲
 内酯在 225 nm 处有最大吸收, 脱水穿心莲内酯在
 254 nm 处有最大吸收, 为了使各成分都得到最大
 响应, 采用切换波长方式采集数据, 分别选择各
 成分的最大吸收波长作为高效液相色谱法的测定
 波长。

参考药典及相关文献中栀子苷、穿心莲内酯
 和脱水穿心莲内酯的含量测定方法^[2-6], 分别采用
 乙腈-水, 甲醇-水, 乙腈-0.2%磷酸水溶液, 甲醇
 -0.2%磷酸水溶液作为流动相进行梯度洗脱考察,
 结果表明采用甲醇-0.2%磷酸溶液梯度洗脱时, 先
 采用较低浓度的甲醇将栀子苷洗脱出来, 然后逐
 步加大甲醇的比例, 依次将穿心莲内酯、脱水穿
 心莲内酯洗脱出来, 可获得较好的分离效果。

本实验采用梯度洗脱、切换波长的方法, 可
 同时测定玉叶金花清热片 3 个有效成分的含量,
 方法简便、准确, 可用于该制剂的质量控制。

REFERENCES

[1] CHENG B S. Determination of andrographis and
 dehydroandrographolide in Yuye Jinhua Qingre pills by HPLC
 [J]. Clin J Chin Med(中医临床研究), 2010, 2(10): 85-86.

- [2] 中国药典. 一部 [S]. 2010: 231, 251.
- [3] LI K. Determination of andrographolide and dehydroandrographolide in Yuyeqinghuo capsule with HPLC [J]. Guid J Tradit Chin Med (中医药导报), 2007, 13(10): 68-70.
- [4] GUO M. HPLC determination of dehydroandrographolide and geniposide in Qinghuozhimai capsules [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2008, 28(11): 1921-1922.
- [5] GONG H N. Determination of geniposide in Yuye Qinghuo Jiaonang by HPLC [J]. Cent South Pharm(中南药学), 2010, 8(6): 448-450.
- [6] LAN X Y, LIN H. HPLC determination of three effective components in Qinghuo Zhimai tablets [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2011, 31(2): 228-230.

收稿日期: 2014-06-14

依巴斯汀原料药及其片剂有关物质测定方法的改进

林琼¹, 杨伟峰^{1,2*}, 陈爽²(1.浙江工业大学, 杭州 310014; 2.浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310004)

摘要: 目的 改进依巴斯汀原料药及其片剂有关物质的测定方法。方法 色谱柱采用 YMC-pack ODS-A C₁₈ 色谱柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm), 乙腈-磷酸盐缓冲液(pH 7.0)(75:25)为流动相, 柱温为 35 ℃, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长为 210 nm。结果 所建立色谱条件可有效检测出依巴斯汀原料药和片剂中杂质, 杂质 C 和杂质 D 的检出限均为 0.11 μg·mL⁻¹, 其校正因子均为 1.4。结论 该方法测定依巴斯汀及其片剂有关物质简便、专属性强, 测定结果准确可靠。

关键词: 依巴斯汀; 有关物质; 高效液相色谱法; 杂质

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2015)04-0489-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.04.026

Improved Determination Method of Related Substances in Ebastine and Ebastine Tablets

LIN Qiong¹, YANG Weifeng^{1,2*}, CHEN Shuang²(1.Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China; 2.Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310004, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To improve the method of related substances determination of ebastine and ebastine tablets. **METHODS** Chromatography was carried on YMC-pack ODS-A C₁₈ column (150 mm×4.6 mm, 5 μm) with the column temperature at 35 ℃, using the acetonitrile-phosphate buffer (pH 7.0) as the mobile phase at a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹. the detective wavelength was set at 210 nm. **RESULTS** The method was effective for determination of related substance in ebastine and ebastine tablets. The detection limit and the calibration factor both of impurity C and impurity D were 0.11 μg·mL⁻¹ and 1.4 respectively. **CONCLUSION** The method proposed for determining the related substances determination of ebastine and ebastine tablets is quick, accurate and reliable.

KRY WORDS: ebastine; related substance; HPLC; impurity

依巴斯汀是一种强效、长效、高选择性的组胺 H₁ 受体阻断剂, 用于各种过敏性疾病的治疗^[1]。国内现有生产企业 2 家, 均执行国家食品药品监督管理局国家药品标准 WS1-(X-008)-2013Z^[2]。另有西班牙艾美罗医药有限公司产品进口, 进口药品注册标准为 JX20030151^[3]。EP8.0、BP2014 和 JP16 版均收录了依巴斯汀^[4-6], 但美国药典未见收录。有关物质检测均采用 HPLC, 但方法有较大差异。在国家药品标准提高过程中发现现行国家标准中有关物质检测方法不尽合理, 在规定的检测波长下, 部分杂质无吸收, 未对已知杂质进行

单独控制, 也未控制单个未知杂质。本文对依巴斯汀有关物质的测定方法进行了改进。

1 仪器与试剂

Agilent 1260 高效液相色谱仪、二极管阵列检测器(美国 Agilent 公司); Mettler Toledo Xs 205 Du 电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司); Mettler Toledo S40k pH 计(梅特勒-托利多仪器有限公司); Milli-Q 纯水仪(美国 Millipore 公司)。

依巴斯汀对照品(杭州澳医保灵药业有限公司提供, 批号: WS20120701, 含量: 99.7%); 依巴斯汀杂质 C(4-二苯基甲氧基哌啶; 江苏联环药业

作者简介: 林琼, 女, 硕士 Tel: (0571)86459422 E-mail: linqiong823@163.com

*通信作者: 杨伟峰, 男, 硕士, 主任药师 Tel:

(0571)86459413 E-mail: ywfzhz@163.com