

高效液相色谱法测定咽炎片中木蝴蝶苷 B 含量

刘保社¹, 曹福麟^{2△}, 曹望弟³

(1. 陕西欧珂药业有限公司, 陕西 商洛 711400; 2. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046;

3. 陕西省商洛市药品检验所, 陕西 商洛 726000)

摘要:目的 建立测定咽炎片中木蝴蝶苷 B 含量的高效液相色谱(HPLC)法。方法 色谱柱采用 Kromasi1100-5 C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-甲醇-0.3% 磷酸溶液(梯度洗脱), 流速为 0.8 mL/min, 检测波长为 280 nm, 柱温为 30 ℃, 进样量为 20 μL。结果 木蝴蝶苷 B 进样量在 0.04~0.86 μg 范围内与峰面积线性关系良好, $r=1.000\ 0$ ($n=7$); 平均加样回收率为 98.83%, RSD 为 1.84% ($n=6$)。结论 该方法简便、快捷, 结果准确、可靠, 可作为咽炎片的质量控制。

关键词: 高效液相色谱法; 咽炎片; 木蝴蝶苷 B; 含量测定

中图分类号: R932; R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2018)23-0024-03

Content Determination of Oroxin B in Yanyan Tablets by HPLC

Liu Baoshe¹, Cao Fulin², Cao Wangdi³

(1. Shaanxi Iok Pharmaceutical Co., Ltd., Shangluo, Shaanxi, China 711400; 2. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang, Shaanxi, China 712046; 3. Shangluo Institute for Drug Control, Shangluo, Shaanxi, China 726000)

Abstract: Objective To establish an HPLC method for content determination of the oroxin B in Yanyan Tablets. **Methods** The chromatographic column was Kromasi1100-5 C₁₈ column(250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile-methanol-0.3% phosphoric acid(gradient elution), the flow rate was 0.8 mL/min, the detection wavelength was 280 nm, the column temperature was 30 ℃, and the sample size was 20 μL. **Results** The oroxin B showed good linear in the range of 0.04-0.86 μg, $r=1.000\ 0$ ($n=7$), the average recovery rate was 98.83%, RSD was 1.84% ($n=6$). **Conclusion** The method is simple, rapid, accurate and reliable, which can be used for the quality control of Yanyan Tablets.

Key words: HPLC; Yanyan Tablets; oroxin B; content determination

咽炎片由玄参、百部、天冬、牡丹皮、麦冬、款冬花、木蝴蝶、地黄、板蓝根、青果、蝉蜕、薄荷油等中药组方, 具有养阴润肺、清热解毒、清利咽喉、镇咳止痒的功效, 用于慢性咽炎引起的咽干、咽痒、刺激性咳嗽等。以往的咽炎片质量控制探讨了黄芩苷、没食子酸、丹酚酸、肉桂酸和芍药苷等的含量测定, 并未建立木蝴蝶有效成分的含量测定方法。本研究中参考《中国药典(一部)》^[1]及文献[2-16], 采用高效液相色谱(HPLC)法测定咽炎片中木蝴蝶的活性成分木蝴蝶苷 B 的含量, 以有效控制其内在质量。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Waters e2695 高效液相色谱仪(包括 2489UV 检测器, 美国 Waters 公司); SQP 型电子分析天平(十万分之一, 北京赛多利斯科学仪器有限公司); AS1512560 型超声波清洗机(天津奥特赛恩斯仪器有限公司)。

1.2 试药

木蝴蝶苷 B 对照品(批号为 111195-201603, 含量为 91.9%, 中国食品药品检定研究院); 咽炎片样品(批

号分别为 170701, 171102, 基片重 0.25 g), 不含木蝴蝶的阴性对照品样品, 均由陕西欧珂药业有限公司提供; 乙腈、甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Kromasi1100-5 C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)-甲醇(B)-0.3% 磷酸溶液(C), 梯度洗脱, 0~30 min 时 15%→19.5% B、75%→69% C, 30~40 min 时 19.5% B、69% C; 流速: 0.8 mL/min; 检测波长: 280 nm; 柱温: 30 ℃; 进样量: 20 μL。

2.2 溶液制备

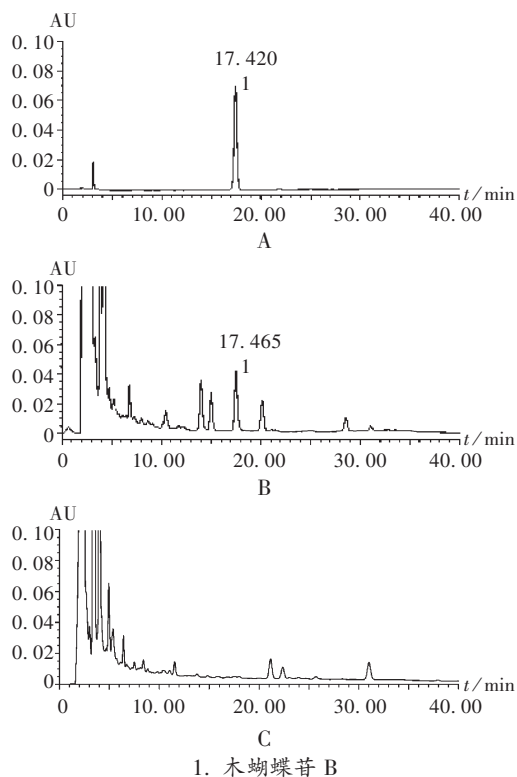
取木蝴蝶苷 B 对照品适量, 精密称定, 加 50% 甲醇, 得质量浓度为 0.043 2 g/L 的对照品溶液; 取除去包衣的咽炎片粉末 1.24 g, 精密称定, 置 50 mL 容量瓶中, 加 70% 甲醇溶液适量, 混匀, 称定质量, 超声 20 min, 放冷, 用 70% 甲醇溶液定容至刻度, 快速过滤, 取续滤液, 微孔滤膜(0.45 μm)滤过, 得供试品溶液; 按处方比例, 照处方制备工艺制成不含木蝴蝶的阴性样品, 按供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。

第一作者: 刘保社, 男, 主管中药师, 研究方向为中药制剂, (电话)0914-4351695(电子信箱)1450032535@qq.com。

△通信作者: 曹福麟, 男, 在读硕士研究生, 研究方向为中药质量标准化控制技术, (电子信箱)374246190@qq.com。

2.3 方法学考察

阴性干扰试验:精密吸取阴性对照品溶液 20 μL , 注入液相色谱仪。色谱图中,在与对照品溶液木蝴蝶苷 B 峰相同位置上无色谱峰出现,表明阴性对照无干扰。色谱图见图 1。



1. 木蝴蝶苷 B
A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液
图 1 高效液相色谱图

线性关系考察:取 2.2 项下对照品溶液,分别进样 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20 μL , 测定峰面积,以对照品进样量 (X) 为横坐标、峰面积 (Y) 为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 13\,448X - 13\,147$, $r = 1.000\,0$ ($n = 7$)。结果表明,木蝴蝶苷 B 进样量在 0.04 ~ 0.86 μg 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:取 2.2 项下对照品溶液,进样 20 μL , 重复进样 6 次,按拟订色谱条件测定峰面积。结果木蝴蝶苷 B 峰面积的 RSD 为 2.43% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:精密吸取供试品溶液 20 μL , 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 时进样,测定峰面积。结果木蝴蝶苷 B 的 RSD 为 1.97% ($n = 7$),表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

重复性试验:取同一批除去包衣的咽炎片粉末 6 份,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,进样 20 μL , 测定峰面积,分别计算含量。结果木蝴蝶苷 B 含量的 RSD 为 1.39% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的同一批除去包衣的咽

炎片粉末 1.24 g,精密称定,分别精密加入质量浓度为 0.011 g/L 的木蝴蝶苷 B 对照品溶液,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,进样 20 μL ,测定峰面积,计算回收率。结果见表 1。

表 1 木蝴蝶苷 B 加样回收试验结果 ($n = 6$)

取样量 (g)	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
1.241 2	0.301 9	0.270 0	0.566 2	97.89	98.83	1.84
1.241 5	0.301 9	0.270 0	0.573 4	100.56		
1.240 9	0.301 8	0.270 0	0.564 9	97.44		
1.240 2	0.301 6	0.270 0	0.561 8	96.37		
1.240 6	0.301 7	0.270 0	0.572 0	100.11		
1.240 8	0.301 8	0.270 0	0.573 4	100.59		

2.4 样品含量测定

取 2 批(批号分别为 170701, 171102)样品,依法制备供试品溶液,按拟订方法测定,结果 2 批样品中木蝴蝶苷 B 的含量分别为 0.254, 0.253 mg/g。

3 讨论

提取方法选择:曾比较药典中加热回流、超声提取等提取方法,考察在不同时间的提取效果及不同浓度的甲醇溶液对样品测定结果的影响。结果表明,选用 70% 甲醇,超声提取 20 min,可充分提取样品中的木蝴蝶苷 B,简单易行,提取率较高。

流动相选择:曾对不同流动相体系条件的色谱分离效果分别进行了考察,分别比较甲醇-水、甲醇-水-磷酸、乙腈-甲醇-磷酸溶液为流动相的效果。结果表明,以乙腈-甲醇-0.3% 磷酸溶液作为流动相,分离效果较好,故选择其为流动相梯度洗脱。

综上所述,本研究中所建立的 HPLC 法测定咽炎片中木蝴蝶苷 B 的含量,操作简便,高效快捷,结果准确,对于咽炎片的质量控制具有积极意义,为该品种质量标准的进一步修订提供了试验依据。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 64-65.
- [2] 王维礼, 付利, 程晓英. 高效液相色谱法测定咽炎片中没食子酸含量[J]. 中国药业, 2008, 17(11): 30-31.
- [3] 童立年, 陈翔. 一测多评法测定咽炎片中肉桂酸、丹皮酚、黄芩苷和没食子酸的含量[J]. 现代实用医学, 2013, 25(6): 697-699.
- [4] 秦香芹, 任敬超. 高效液相色谱法测定咽炎片中芍药苷的含量[J]. 黑龙江医药, 2012, 25(4): 529-530.
- [5] 吴宏岩, 孙佳梅, 胡波, 等. 高效液相色谱法测定咽炎片中黄芩苷的含量[J]. 中国药业, 2006, 15(17): 36-37.
- [6] 梁少强, 谢仕伟, 李国荣. 咽炎片质量标准的研究[J]. 中国医药指南, 2009, 7(23): 81-83.