

· 研究报告 ·

HPLC-ELSD 法同时测定小儿宝泰康颗粒中贝母素甲与贝母素乙的含量

沈立茹¹, 李瑞宏², 王太亮¹ (1. 唐山市食品药品监督管理局, 河北 唐山 063020; 2. 河北省儿童医院药剂科, 河北 石家庄 050030)

[摘要] 目的 建立 HPLC-ELSD 同时测定小儿宝泰康颗粒中 2 个指标成分贝母素甲、贝母素乙含量的方法。方法 采用 Thermo C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相: 乙腈-水-二乙胺 (65 : 35 : 0.03), 流速: 1.0 ml/min; ELSD 参数为漂移管温度: 85 °C, 载气流速: 2.2 L/min。结果 贝母素甲在 0.586~5.860 μg ($r=0.9996$)、贝母素乙在 0.564~5.640 μg ($r=0.9999$) 与峰面积的对数值呈线性关系; 平均加样回收率分别为 99.44% 和 98.56%, RSD 分别为 0.7% 和 1.0%。结论 该方法简便、准确、重复性好, 可用于小儿宝泰康颗粒的质量控制。

[关键词] 小儿宝泰康颗粒; 贝母素甲; 贝母素乙; 高效液相色谱-蒸发光散射检测法

[中图分类号] R284.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2016)04-0351-03

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.04.017

Simultaneous determination of peimine and peiminine in Xia'er BaotaiKang granules by HPLC-ELSD

SHEN Liru¹, LI Ruihong², WANG Tailiang¹ (1. Food and Drug Inspection Center of Tangshan, Tangshan 063020, China; 2. The Children's Hospital of Hebei Province, Shijiazhuang 050030, China)

[Abstract] **Objective** To develop a new high performance liquid chromatography (HPLC) coupled with Evaporative Light Scattering Detector (ELSD) method for simultaneous determination of two indicative components (peimine and peiminine) in Xia'er BaotaiKang granules. **Methods** The analysis was performed on a Thermo C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) by using a mobile phase consisted of acetonitrile-water and diethylamine (65 : 35 : 0.03), and the flow rate was 1.0 ml/min; ELSD parameters: the temperature of drift tube was 85 °C and the carrier gas flow rate was 2.2 L/min. **Results** The linear ranges of peimine and peiminine were 0.586~5.860 μg ($r=0.9996$) and 0.564~5.640 μg ($r=0.9999$), respectively. The average recovery rate for peimine and peiminine was 99.44% (RSD was 0.7%) and 98.56% (RSD was 1.0%), respectively. **Conclusions** The method is simple, accurate and reproducible, which could be used for the quality control of Xia'er BaotaiKang granules.

[Key words] Xia'er BaotaiKang granules; peimine; peiminine; HPLC-ELSD

小儿宝泰康颗粒收载于《中华人民共和国药典(一部)》2015年版(简称《药典》),由连翘、地黄、滇柴胡、玄参、桑叶、浙贝母、蒲公英、南板蓝根、滇紫草、桔梗、莱菔子、甘草十二味中药组成,具有解表清热、止咳化痰的功效,主要用于小儿风热外感,症见发热、流涕、咳嗽、脉浮等。其中,浙贝母是组方中主药之一。浙贝母的主要成分为异甾体生物碱及其苷,药理研究表明,贝母素甲和贝母素乙具有抗胆碱活性和支气管松弛作用,是浙贝母的主要活性成分^[1]。由于贝母素甲和贝母素乙无紫外吸收,《药典》中采用酸性染料比色法,以贝母素甲为对照,测

定贝母总碱的含量^[2]。另《药典》中关于浙贝母药材的含量测定采用 HPLC-ELSD 法测定贝母素甲和贝母素乙的含量,笔者参考其含量测定方法,并经查阅文献^[3-6],采用 HPLC-ELSD 法对小儿宝泰康颗粒中的贝母素甲和贝母素乙同时进行含量测定,该法由测定总生物碱改成指标性成分的测定,大幅提高了质量控制标准,并且方法简便、准确,为评价小儿宝泰康颗粒的质量提供了科学依据。

1 仪器与试剂

Waters e2695 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),Alltech-ELSD2000ES 型蒸发光散射检测器; BP211D 型电子天平(德国赛多利斯公司)。

贝母素甲(批号:110750-201110,纯度 98.3%)

和贝母素乙(批号:110751-201110,纯度 99.9%)对照品均购自中国食品药品检定研究院;乙腈为色谱纯,水为市售娃哈哈水,其余试剂均为分析纯;5批小儿宝泰康颗粒为市售药(云南白药集团股份有限公司,4 g/袋,批号:ZEC1404、ZEC1406、ZEC1407、ZFC1501、ZFC1502)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Thermo C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相:乙腈-水-二乙胺(65:35:0.03),流速:1.0 ml/min,柱温:25 °C,检测器漂移管温度:85 °C,载气流速:2.2 L/min。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 取适量贝母素甲及贝母素乙对照品,精密称定,加甲醇制成 1 ml 含 0.117 2 mg 贝母素甲和 0.112 8 mg 贝母素乙的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取小儿宝泰康颗粒样品,混匀,研细,精密称取约 10.0 g,置分液漏斗中,加水 30 ml 使溶解,用氨水调节 pH 值至 11,用乙醚提取 5 次,每次 30 ml,合并乙醚液,水浴蒸干,残渣加甲醇溶解,并定容至 5 ml 量瓶中,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.2.3 阴性对照溶液 按处方制备缺少浙贝母的阴性对照样品,并按“2.2.2”项下方法制备阴性对照溶液。

2.3 方法学考察

2.3.1 专属性试验 取混合对照品溶液、缺浙贝母的阴性对照溶液及供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进行分析,结果如图 1,阴性对照溶液中未检测到贝母素甲及贝母素乙,说明供试品溶液中的其他成分对测定结果无影响。该方法专属性良好。

2.3.2 系统适用性 在“2.1”项色谱条件下,贝母素甲及贝母素乙的色谱峰与相邻峰的分度均大于 1.5,理论塔板数按贝母素甲峰计,不低于 8 000。样品中其他成分对贝母素甲及贝母素乙的测定无干扰。对照品和供试品中贝母素甲及贝母素乙的色谱图见图 1。

2.3.3 线性关系 在“2.1”项色谱条件下,精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液 5、10、15、20、25、30 和 50 μl 依次进样。以峰面积的常用对数为纵坐标(Y),以进样质量的常用对数为横坐标(X)绘制标准曲线,计算 2 种成分的回归方程,贝母素甲: $Y = 1.521 X + 6.018 8$, $r = 0.999 6$;贝母素乙: $Y = 1.572 3 X + 6.072 3$, $r = 0.999 9$ 。结果表明,贝母

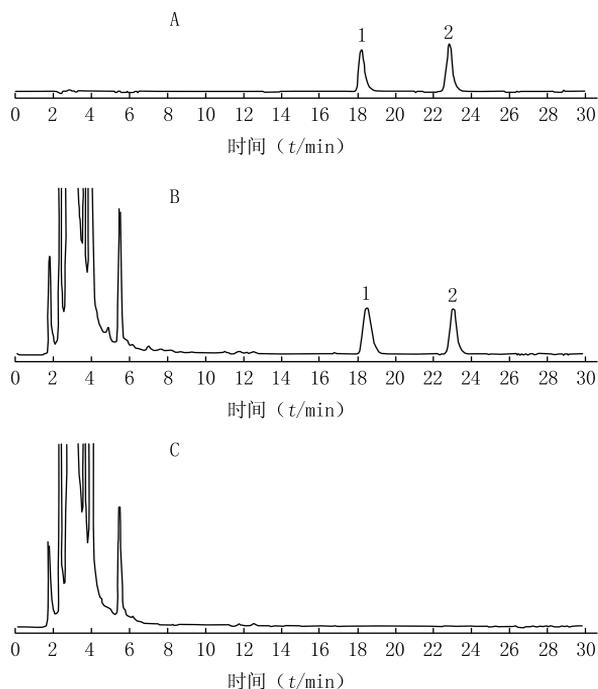


图 1 小儿宝泰康颗粒 HPLC 图

A. 对照品溶液; B. 供试品溶液; C. 阴性对照溶液;
1. 贝母素甲; 2. 贝母素乙

素甲在 0.586 ~ 5.860 μg 范围内、贝母素乙在 0.564 ~ 5.640 μg 范围内呈良好线性关系。

2.3.4 精密度试验 取“2.2.1”项下的混合对照品溶液,按“2.1”项色谱条件连续进样 5 次,分别计算各组峰面积的 RSD:贝母素甲 0.8%、贝母素乙 1.2%。

2.3.5 稳定性试验 取供试品溶液(批号:ZFC1501),按“2.1”项下色谱条件,分别于 1、2、4、8、10、12 h 进样测定。结果贝母素甲和贝母素乙峰面积的 RSD 分别为 1.0% 和 1.4%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.3.6 重复性试验 取小儿宝泰康颗粒(批号:ZFC1501),按“2.2.2”项下方法制备 5 份供试品溶液,进样分析。结果贝母素甲和贝母素乙平均含量分别为 0.0562 和 0.437 mg/g;RSD 分别为 1.8% 和 1.1%。

2.3.7 加样回收率试验 取小儿宝泰康颗粒(批号:ZFC1501)6 份,每份约 5.0 g,精密称定,分别精密加入“2.2.1”项下混合对照品溶液各 2.0 ml,按“2.2.2”项下方法制备,进样分析,计算回收率,结果见表 1。

2.4 样品测定 分别精密吸取对照品溶液 15 和 25 μl、供试品溶液 20 μl,注入高效液相色谱仪,按“2.1”项下色谱条件进行测定,以峰面积和进样质量

表1 加样回收率试验结果

| 成分 | 样品含量 (m/mg) | 加入量 (m/mg) | 测得量 (m/mg) | 回收率 (%) | 平均值 (%) | RSD (%) |
|------|----------------|---------------|---------------|------------|------------|------------|
| 贝母素甲 | 0.291 0 | 0.234 4 | 0.524 2 | 99.49 | 99.44 | 0.7 |
| | 0.290 0 | 0.234 4 | 0.523 6 | 99.66 | | |
| | 0.291 6 | 0.234 4 | 0.526 4 | 100.17 | | |
| | 0.291 2 | 0.234 4 | 0.522 0 | 98.46 | | |
| | 0.291 0 | 0.234 4 | 0.523 0 | 98.98 | | |
| | 0.291 4 | 0.234 4 | 0.525 6 | 99.91 | | |
| 贝母素乙 | 0.224 4 | 0.225 6 | 0.447 2 | 98.76 | 98.56 | 1.0 |
| | 0.224 0 | 0.225 6 | 0.447 6 | 99.11 | | |
| | 0.224 8 | 0.225 6 | 0.450 0 | 99.82 | | |
| | 0.224 2 | 0.225 6 | 0.445 6 | 98.14 | | |
| | 0.224 4 | 0.225 6 | 0.446 4 | 98.40 | | |
| | 0.224 8 | 0.225 6 | 0.444 0 | 97.16 | | |

取常用对数,用外标两点法计算供试品中贝母素甲和贝母素乙的含量。5批小儿宝泰康颗粒样品的含量测定结果见表2。

表2 样品含量测定结果(mg/g, n=2)

| 批号 | 贝母素甲 | 贝母素乙 |
|---------|---------|---------|
| ZEC1404 | 0.053 7 | 0.040 5 |
| ZEC1406 | 0.055 4 | 0.042 6 |
| ZEC1407 | 0.054 2 | 0.041 0 |
| ZFC1501 | 0.058 2 | 0.044 9 |
| ZFC1502 | 0.056 2 | 0.043 5 |

3 讨论

ELSD 是一种质量型检测器,尤其适用于弱紫外吸收的化合物。本实验采用 HPLC-ELSD 法同时测定贝母素甲和贝母素乙的含量,结果表明,样品中的贝母素甲和贝母素乙能够获得很好的分离,杂质干扰少,操作简便,效果理想。

文献测定贝母素甲和贝母素乙的常用流动相分别为乙腈-水-二乙胺(70:30:0.03)^[3],甲醇-乙腈-0.5%醋酸溶液(8:19:73)^[4],乙腈-甲醇-二乙胺

(60:40:0.05)^[5],乙腈-10 mmol/L NH₄HCO₃(浓氨水调至 pH 值 10.10)梯度洗脱^[6]。本文考察了乙腈-水-二乙胺、甲醇-水-二乙胺和乙腈-甲醇-二乙胺 3 种流动相系统,结果表明,以乙腈-水-二乙胺(65:35:0.03)作为流动相时,样品中贝母素甲和贝母素乙的分离效果好,且杂质峰少,故选用该流动相。

分别考察氯仿、乙醚、乙酸乙酯 3 种不同提取溶剂的提取效果,结果表明:乙醚提取率高,氯仿提取率低,乙酸乙酯因易乳化,导致杂质峰较多、干扰大。故选用乙醚作为提取溶剂。

经提取 3、4、5、6 次实验,结果表明:提取 5 次和 6 次的测得量相差不大,但明显优于提取 3 次和 4 次的测得量,为节省溶剂,选择提取 5 次。

本实验建立的 HPLC-ELSD 法可以方便、准确地测定小儿宝泰康颗粒中贝母素甲和贝母素乙的含量,将《药典》中测定贝母总碱改为贝母素甲和贝母素乙指标性成分的测定,为小儿宝泰康颗粒质量标准的提高提供了参考。

【参考文献】

- [1] 俞 滢,朱亚尔. HPLC-MS 测定癸闭康泰片中贝母素甲、贝母素乙的含量[J]. 中国药理学杂志, 2006, 41(13):1026-1028.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2015 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 540-541.
- [3] 范 蕾,王伟影. 可同时测定蛇胆川贝液中贝母素甲与贝母素乙含量的方法[J]. 中国药业, 2012, 21(2):41-42.
- [4] 李慧婷,王 冰,韩荣春. HPLC-ELSD 同时测定平贝母中贝母素甲和贝母素乙含量[J]. 现代中药研究与实践, 2010, 24(4):58-60.
- [5] 马双成,张树潘,鲁 静,等. 高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定鹤鹑片中贝母素甲和贝母素乙的含量[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(1):118-120.
- [6] 薛 燕,顾好粮. HPLC-ELSD 法测定浙贝母中主要生物碱的含量[J]. 药学学报, 2005, 40(6):550-552.

[收稿日期] 2016-03-21 [修回日期] 2016-05-26
[本文编辑] 李睿旻

(上接第 317 页)

- [8] Kusari S, Pandey SP, Spittel M. Untapped mutualistic paradigms linking host plant and endophytic fungal production of similar bioactive secondary metabolites [J]. Phytochemistry, 2013, 91: 81-87.
- [9] 任跃英,丛 林,官秀芝,等. 人参资源现状及可持续发展战略[J]. 人参研究, 2003, 15(4): 9-10.
- [10] 郭凤霞,陈路晓,刘 斌,等. 人参中人参皂苷类成分含量测定方法优化[J]. 环球中医药, 2015, 8(10): 1175-1178.

- [11] 曲桂武,夏学超,潘丽丽,等. 8 种人参皂苷在人参全草中的分布情况[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(17): 52-55.
- [12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2015 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 8-9.
- [13] 常振战,果德安,郑俊华. Ri 质粒转化植物生产天然活性成分的研究进展(II)[J]. 中草药, 1998, 29(11):775-777.

[收稿日期] 2016-01-26 [修回日期] 2016-05-03
[本文编辑] 李睿旻