

# HPLC法测定小儿清热止咳口服液中(R,S)-告依春的含量

冯家龙\*(聊城市药品检验所,山东聊城 252000)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)40-3825-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.40.28

**摘要** 目的:建立测定小儿清热止咳口服液中(R,S)-告依春含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为ZORBAX SB-C<sub>18</sub>,流动相为乙腈-水-磷酸-三乙胺(9:90:0.95:0.05, V/V/V/V),流速为0.7 ml/min,检测波长为245 nm,柱温为30 ℃,进样量为10 μl。结果:(R,S)-告依春检测质量浓度在15.12~35.76 μg/ml范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系( $r=0.999\ 0$ );精密密度、稳定性、重复性试验的RSD≤1.0%;平均加样回收率为98.90%,RSD=1.06%( $n=6$ )。结论:该方法回收率、精密度和稳定性均较理想,适用于小儿清热止咳口服液的质量控制。

**关键词** 小儿清热止咳口服液;(R,S)-告依春;高效液相色谱法;含量测定

## Content Determination of (R,S)-Goitrin in Xiao'er Qingre Zhike Oral Liquid by HPLC

FENG Jia-long(Liaocheng Institute for Drug Control, Shandong Liaocheng 252000, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the method for the content determination of (R,S)-Goitrin in Xiao'er qingre zhike oral liquid. METHODS: HPLC was employed. The determination was performed on ZORBAX SB-C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of acetonitrile-water-phosphoric acid-triethylamine (9:90:0.95:0.05, V/V/V/V) at the flow rate of 0.7 ml/min. The detection wavelength was set at 245 nm and column temperature was 30 ℃. The injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear range of (R,S)-Goitrin were 15.12-35.76 μg/ml ( $r=0.999\ 0$ ) with an average recovery of 98.90% (RSD=1.06%,  $n=6$ ). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 1.0%. CONCLUSIONS: The recovery, precision and stability of the method is optimal and suitable for the content determination of Xiao'er qingre zhike oral liquid.

**KEY WORDS** Xiao'er qingre zhike oral liquid; (R,S)-Goitrin; HPLC; Content determination

小儿清热止咳口服液是由板蓝根等7味中药制成的颗粒,可清热宣肺、平喘、利咽,用于小儿外感风热所致的感冒,症见发热恶寒、咳嗽痰黄、气促喘息、口干音哑、咽喉肿痛<sup>[1]</sup>。处方中的主药板蓝根为十字花科植物菘蓝的干燥根,含有生物碱类、核苷类、氨基酸类及有机酸类成分,具有清热解毒、凉血利咽之功效<sup>[2]</sup>。板蓝根在我国传统医学中的应用历史极为悠久,《神农本草经》上品栏中即有“蓝实”记载。目前,包括现行2010年版《中国药典》在内,板蓝根制剂均以氨基酸定性鉴别方法进行质量控制,尚无专属性指标成分用于质量标准研究<sup>[3]</sup>。(R,S)-告依春(表告依春, C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>NOS)为板蓝根抗病毒的代表性有效成分之一<sup>[4]</sup>,目前虽有文献报道过板蓝根提取物中所含(R,S)-告依春在大鼠体内的药动学研究<sup>[5]</sup>,但尚未有适用于测定小儿清热止咳口服液中(R,S)-告依春含量的方法报道,且2010年版《中国药典》中亦未收载板蓝根中(R,S)-告依春的含量测定方法。为有效控制产品质量,本研究在借鉴相关学者研究成果<sup>[6]</sup>的基础上,建立以高效液相色谱(HPLC)法测定小儿清热止咳口服液中(R,S)-告依春含量的方法。

### 1 材料

Agilent 1100型HPLC仪,包括四元泵、自动进样器、DAD二极管阵列检测器等(美国安捷伦公司);KQ-400KDE型高功率数控超声波清洗器(河南兄弟仪器设备有限公司);BT125D型电子天平(德国赛多利斯公司)。

\*主管药师。研究方向:药物分析及质量标准提高。电话:0635-8535586。E-mail:LCHFJL@sina.com

(R,S)-告依春对照品(中国食品药品检定研究院,批号:111753-201103);小儿清热止咳口服液(河南太龙药业股份有限公司);乙腈、磷酸、三乙胺(色谱纯,美国Tedia公司);水为超纯水。

### 2 方法与结果

#### 2.1 色谱条件

色谱柱:ZORBAX SB-C<sub>18</sub>柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水-磷酸-三乙胺(9:90:0.95:0.05, V/V/V/V);检测波长:245 nm;流速:流速0.7 ml/min;柱温:30 ℃;进样量:10 μl。

#### 2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 取(R,S)-告依春对照品适量,精密称定,加流动相制成每1 ml含15.16 μg的溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 精密量取样品20 ml,精密加水50 ml,称定质量,超声处理(功率:250 W,频率:33 kHz)30 min,放冷,再称定质量,用水补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液2 ml,水浴蒸干,残渣加流动相适量溶解,并定容于10 ml量瓶中,摇匀,用0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 取按处方比例及生产工艺制备的不含板蓝根原药材的阴性样品,按“2.2.2”项下方法制备溶液,即得。

#### 2.3 系统适用性试验

分别取“2.2”项下对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液10 μl注入HPLC仪,按“2.1”项下色谱条件进样,记录色谱,详见图1。由图1可见,阴性对照色谱在对照品色谱相应位置

无色谱峰出现,表明阴性对照对测定无干扰。 $(R,S)$ -告依春与其他组分分离度大于1.5,理论板数按 $(R,S)$ -告依春峰计算不低于5 000,拖尾因子和保留时间分别为0.90和5.2 min。

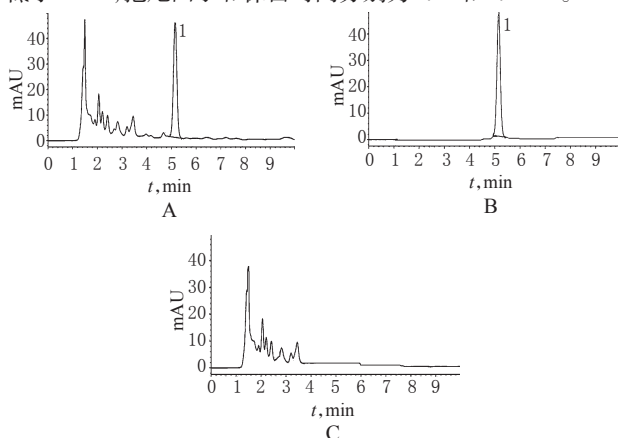


图1 高效液相色谱图

A.供试品;B.对照品;C.阴性对照;1. $(R,S)$ -告依春

Fig 1 HPLC chromatograms

A.test sample; B.substance control; C.negative control; 1. $(R,S)$ -Goitrin

## 2.4 线性关系考察

精密称取 $(R,S)$ -告依春对照品适量,制成质量浓度分别为15.12、20.56、25.17、30.16、35.76  $\mu\text{g/ml}$ 的系列溶液。在“2.1”项色谱条件下分别进样10  $\mu\text{l}$ ,记录峰面积。以 $(R,S)$ -告依春的色谱峰面积( $y$ )对检测质量浓度( $x, \mu\text{g/ml}$ )进行线性回归,得回归方程 $y=26\ 717x+2\ 965.6(r=0.999\ 0)$ 。结果表明, $(R,S)$ -告依春检测质量浓度在15.12~35.76  $\mu\text{g/ml}$ 范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

## 2.5 精密度试验

取按“2.2.1”项下方法制备的对照品溶液适量,重复进样6次,每次进样10  $\mu\text{l}$ ,测定 $(R,S)$ -告依春峰面积。结果,RSD=0.3%,表明仪器精密度良好。

## 2.6 稳定性试验

取按“2.2.2”项下方法制备的供试品溶液(批号:120326)适量,在室温下放置0、1、2、3、4、5 h时分别进样10  $\mu\text{l}$ ,测定 $(R,S)$ -告依春峰面积。结果,RSD=0.95%,表明供试品溶液在室温下放置5 h内稳定性良好。

## 2.7 重复性试验

取同一批号的样品(批号:120326)适量,共5份,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,各进样10  $\mu\text{l}$ ,测定并计算 $(R,S)$ -告依春含量。结果,含 $(R,S)$ -告依春的量平均为15.16  $\mu\text{g/ml}$ ,RSD=1.0%,表明本方法的重复性良好。

## 2.8 加样回收率试验

精密量取已知含量的样品(批号:120326)适量,共6份,每份1 ml,分别精密加入 $(R,S)$ -告依春对照品溶液适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算加样回收率,结果见表1。

## 2.9 样品含量测定

取小儿清热止咳口服液样品3批,按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别精密吸取供试品溶液和对照品溶液各10  $\mu\text{l}$ ,注入HPLC仪,按“2.1”项下色谱条件进样测定,并按外标法计算含量,结果见表2。

## 3 讨论

表1 加样回收率试验结果( $n=6$ )

Tab 1 Results of recovery tests( $n=6$ )

所含量, $\mu\text{g}$	加入量, $\mu\text{g}$	测得量, $\mu\text{g}$	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
15.16	15.26	30.39	99.90		
15.16	15.26	30.23	99.38		
15.16	15.26	30.04	98.75	98.90	1.06
15.16	15.26	30.11	98.98		
15.16	15.26	29.98	98.55		
15.16	15.26	29.77	97.86		

表2 样品含量测定结果( $n=3$ )

Tab 2 Results of content determination of samples ( $n=3$ )

批号	含 $(R,S)$ -告依春的量, $\mu\text{g/ml}$	RSD, %
120326	15.16	
110617	15.83	1.02
110116	15.26	

## 3.1 流动相的选择

本试验比较了甲醇-水、甲醇-水-磷酸、乙腈-水-磷酸流动相系统的洗脱情况。结果,乙腈-水-磷酸系统明显优于甲醇-水、甲醇-水-磷酸系统<sup>[7]</sup>。另外,不同的pH条件下色谱图有显著差异,通过比较不同的加酸量,最后确定360 ml水中加入3.8 ml磷酸,主峰与杂质峰分离效果较好;以三乙胺为峰形改良剂,同时也起到了调节酸碱度的作用<sup>[8]</sup>。

## 3.2 样品溶剂的选择

因进样时供试品溶液必须保证所含 $(R,S)$ -告依春分子以一种状态(分子型或游离型)存在,如果直接以甲醇溶解样品则使 $(R,S)$ -告依春对应的峰产生肩峰,故最终选择酸性的流动相作溶剂配制供试品溶液。

## 3.3 提取溶剂的选择

本试验比较了3种不同提取溶剂甲醇、70%乙醇、水的提取效果。结果,水提取效率明显高于前两者,这与现代研究发现水煎板蓝根在制剂中发挥极强的抗病毒作用相吻合,故选择水为提取溶剂<sup>[9]</sup>。

## 3.4 提取方法的选择

本试验以水为溶媒,比较了3种不同的提取方法冷浸法、热回流提取法和超声提取法的提取效果。结果,超声提取法提取率高于前两者。同时,分别比较超声10、20、30 min的效果,发现采用超声提取30 min能够提取完全<sup>[10]</sup>。

综上所述,在测定过程中,小儿清热止咳口服液方中其他药材对 $(R,S)$ -告依春的含量测定无干扰。本方法简便,且重复性好,回收率、精密度和稳定性均较理想,能够有效地控制该制剂的质量。

## 参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:496.
- [2] 王钢力,聂黎行,迟玉明,等.HPLC法测定板蓝根和板蓝根颗粒中 $RS$ -告依春和腺苷[J].中草药,2009,40(10):1587.
- [3] 石燕红,谢志勇,吴迎春,等.RP-HPLC测定板蓝根制剂中 $R,S$ -告依春[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(8):128.
- [4] 徐丽华,黄芳,陈婷,等.板蓝根中的抗病毒活性成分[J].中国天然药物,2005,3(6):359.
- [5] 黄芳,熊雅婷,徐丽华,等.板蓝根不同提取物中抗病毒成

# HPLC法测定赖诺普利片含量及含量均匀度的不确定度评定

谢琼玉\*(汕头市药品检验所,广东 汕头 515041)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)40-3827-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.40.29

**摘要** 目的:建立测定赖诺普利片含量及含量均匀度的不确定度的评定方法。方法:采用高效液相色谱(HPLC)法测定赖诺普利片中主药的含量和含量均匀度,并建立评定其不确定度的数学模型,确定影响不确定度的因素并对各个不确定度因素进行评估。结果:置信概率为95%时,两种规格的赖诺普利片含量及含量均匀度测定的扩展不确定度分别为0.4%、0.5%和1.5%、2.5%。结论:该方法适用于HPLC法测定赖诺普利片含量及含量均匀度的不确定度评定。

**关键词** 赖诺普利片;高效液相色谱法;含量;含量均匀度;不确定度;评定

## Evaluation of Uncertainty for the Determination of Lisinopril Tablets and Content Uniformity by HPLC

XIE Qiong-yu(Shantou Institute for Drug Control, Guangdong Shantou 515041, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the uncertainty evaluation for the determination of Lisinopril tablets and content uniformity by HPLC. METHODS: HPLC was adopted for the determination of the content and content uniformity of Lisinopril tablets and mathematical model was established for the evaluation of uncertainty to identify influential factors of uncertainty and evaluate the uncertainty factors. RESULTS: The expanded uncertainty for determination of content and content uniformity of Lisinopril tablets with two specifications were 0.4%, 0.5% and 1.5%, 2.5%, respectively ( $P=95\%$ ). CONCLUSIONS: The method is suitable for the uncertainty evaluation of HPLC determination of content and content uniformity of Lisinopril tablets.

**KEY WORDS** Lisinopril tablets; HPLC; Content; Content uniformity; Uncertainty; Evaluation

在实验工作中,报告测量结果不仅要给出测定的量值是多少,还应给出以数量表示的该值的分散程度,它是测量质量的指标,用于判断该测定值的可靠程度。过去习惯用误差、准确度概念来描述测量的准确程度,从1995年开始国际上正式使用不确定度来表达测量结果的分散程度。赖诺普利片为《中国药典》2010年版(二部)新增补的品种<sup>[1]</sup>,其标示量规格有5、10、20 mg 3种。根据《中国药典》要求,除另有规定外,片剂每片标示量不大于25 mg的应检查含量均匀度;且赖诺普利片的含量和含量均匀度的测定按标准均采用高效液相色谱(HPLC)法。因此,本次笔者根据《测量不确定度评定与表示》、《化学分析中不确定度的评估指南》、《中国药典》2010年版(二部)及相关的文献<sup>[2-7]</sup>,对生产企业送检的2种规格(5、10 mg)赖诺普利片的含量及含量均匀度测定结果进行不确定度评定,以评估影响不确定度的因素及其各个不确定度分量对测定结果的影响大小,建立适用于HPLC法测定该药含量及含量均匀度的不确定度评定的方法。

## 1 材料

LC-20A HPLC仪,包括Prominence SPD-M20A PDA检测器及LCsolution工作站等(日本岛津公司);XS205DU电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司, $d=0.01$  mg)。

赖诺普利对照品(中国食品药品检定研究院提供,批号:100814-200701,质量分数:91.2%);赖诺普利片(汕头金石制药总厂生产,样品1的规格:5 mg,批号:110102;样品2的规格:10 mg,批号:110103);乙腈为色谱纯,其余试剂为分析纯,实验用水为纯化水。

## 2 试验方法

### 2.1 色谱条件与系统适用性

色谱柱:Accurasil C<sub>18</sub>柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:磷酸盐缓冲液(0.02 mol/L磷酸二氢钠溶液,用氢氧化钠试液调节pH至5.0)-乙腈(92:8, V/V);检测波长:215 nm;流速:1.0 ml/min;进样量:20 μl;柱温:30 ℃。在上述色谱条件下,赖诺普利峰与2-氨基-4-苯基丁酸峰的分离度大于3.0,理论板数按

分表告依春在大鼠体内的药代动力学[J].中国药科大学学报,2006,37(6):519.

[6] 王瑞,杨海英,杨琪伟,等.板蓝根的质量标准研究[J].中草药,2010,41(3):478.

[7] 安益强,贾晓斌,袁海建,等.HPLC测定板蓝根药材及其制剂中表告依春的含量[J].中国中药杂志,2008,33(18):2074.

[8] 安益强,贾晓斌,陈彦,等.RP-HPLC测定不同厂家板蓝根颗粒中表告依春的含量[J].中华中医药杂志,2009,24(4):529.

[9] 莫迎.不同的提取方法对板蓝根中(R,S)-告依春的影响[J].中医药导报,2011,17(6):89.

[10] 范春芳,张枚.高效液相色谱法测定板蓝根颗粒中表告依春的含量[J].武警后勤学院学报:医学版,2012,21(5):346.

\*主管药师。研究方向:药品质量标准及药物检验技术。电话:0754-88391242。E-mail:18923663166@189.cn

(收稿日期:2013-01-17 修回日期:2013-05-27)