

# HPLC 法测定千柏鼻炎片中的金丝桃苷

苏 健

(昆明市食品药品检验所, 云南 昆明 650032)

**摘要:**采用 HPLC 外标法测定 10 批千柏鼻炎片中的金丝桃苷, 色谱条件为, 十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,  $V$ (乙腈): $V$ (0.2% 醋酸溶液) = 16:84 为流动相, 柱温为 30 °C, 流速为 1 mL/min, 检测波长为 360 nm. 在此条件下色谱柱的理论塔板数( $n$ )大于 10 000, 目标成分色谱峰的分离度( $R$ )大于 1.5, 拖尾因子( $T$ )大于 0.95、小于 1.05, 色谱条件均能达到《中华人民共和国药典》2010 年版中高效液相色谱法的定量检测要求, 满足该复方制剂中单一有效成分的定量测定. 测定结果表明, 10 批千柏鼻炎片中的金丝桃苷平均为每片 0.848 6 mg. 平均回收率为 96.90%,  $RSD$  为 0.41% ( $n=9$ ).

**关键词:**千里光; 千柏鼻炎片; 金丝桃苷; HPLC 法

**中图分类号:**R284; O657.72 **文献标识码:**A **文章编号:**1674-5639(2014)06-0080-02

## Determination of Hyperoside in the Qianbai Biyan Pian by HPLC

SU Jian

(Kunming Institute for Food and Drug Control, Yunnan Kunming 650032, China)

**Abstract:** Determining Hyperoside from ten batches of qianbaibiyuan tablets with HPLC external standard method, the chromatography condition was eighteen alkyl silane bonded silica as filler,  $V$ (acetonitrile): $V$ (0.2% acetic acid solution) = 16:84 as the mobile phase; the column temperature was 30 °C; the flow rate was 1 mL/min; the detection wavelength was 360 nm. Theoretical plate column under this condition number( $n$ ) is greater than 10 000; the degree of separation of the target component chromatographic peak( $R$ ) greater than 1.5; the tailing factor( $T$ ) greater than 0.95 and less than 1.05; require quantitative detection of chromatographic conditions were able to achieve the "Pharmacopoeia of the people's Republic of China" in 2010 edition of high performance liquid chromatography a the quantitative determination and meet the single active ingredient in the compound preparation. The determination results show that Hyperoside in each tablet of the ten batches in qianbaibiyuan tablets averaged 0.848 6 mg. The average recovery was 96.90%,  $RSD$  was 0.41% ( $n=9$ ).

**Key words:** senecionis scandentis hebra; qianbai biyan pian; hyperoside; HPLC

千柏鼻炎片为《中华人民共和国药典》2010 年版的收载品种, 由菊科植物千里光 *Senecio scandens Buch.-Ham.* 为君药制成的片剂, 具有清热解毒, 活血祛风, 宣肺通窍之功效, 可治疗急慢性鼻炎、鼻窦炎, 其质量标准中无含量测定项目<sup>[1]</sup>. 植物化学研究<sup>[2-3]</sup>表明, 黄酮类化合物在抗炎、抗变态反应、抗微生物、抗肿瘤<sup>[4]</sup>等多方面都有一定的药理作用. 千里光的抗炎作用主要源于所含的黄酮类成分<sup>[5]</sup>, 而金丝桃苷是该植物中最主要的黄酮类成分<sup>[6]</sup>, 具有抗炎、抗菌、止咳等显著的药理活性, 与千柏鼻炎片功效接近, 可作为指标性成分对千柏鼻炎片进行质量控制. 因此, 本试验拟建立高效液相色谱法测定千柏鼻炎片中金丝桃苷的含量(质量分数), 旨在为进一步完善该制剂的质量控制提供新方法.

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

SHIMADZU 20A 型高液相色谱仪(日本岛津公

司); DENVER TB-215D 型百万分之一分析天平; FUNGILAB 超声清洗器; Thermo Gold 色谱柱( $C_{18}$  填料, 4.6 mm × 250 mm, 5 μm).

### 1.2 材料

金丝桃苷供含量(质量分数)测定用, 中国药品生物制品检定所提供, 批号 111 521 ~ 201 004; 水为超纯水; 乙腈为色谱纯; 其他试剂均为分析纯; 千柏鼻炎片样品为广东省多家药厂生产.

## 2 方法与结果

### 2.1 检测方法

#### 2.1.1 色谱条件

采用不同的柱温、不同比例的流动相及不同的流速进行试验, 最终确定色谱条件为: 十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 流动相用  $V$ (乙腈): $V$ (0.2% 醋酸溶液) = 16:84 的混合溶液, 柱温 30 °C, 流速为 1 mL/min, 检测波长 360 nm, 进样量为对照品溶液和供试品溶液各 10 μL. 理论塔板数( $n$ )以金丝桃苷峰

收稿日期: 2014-09-19

作者简介: 苏健(1972—), 男, 云南昆明人, 副主任药师, 昆明市食品药品检验所副所长, 硕士, 主要从事药品质量检验与标准研究.

计算不低于 10 000. 在此条件下(见下图 1), 金丝桃苷对照品峰的拖尾因子( $T$ )为 1.02, 千柏鼻炎片样品中金丝桃苷和邻近峰分离度( $R$ )为 2.6, 阴性对照样品无干扰, 由此可知, 满足定量测定的技术要求.

### 2.1.2 检测波长的选择

取金丝桃苷对照品适量, 用体积分数为 75% 甲醇溶解, 以相同溶剂作随行空白对照, 200 ~ 400 nm 波长范围扫描, 金丝桃苷在 360 nm 波长处有最大吸收, 故选择 360 nm 作为千柏鼻炎片中金丝桃苷的含量(质量分数)测定波长.

### 2.2 对照品溶液的制备

精密称取金丝桃苷对照品适量, 加体积分数为 75% 甲醇制成质量浓度为 40  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的溶液, 用时取出, 再用 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤, 即可得到.

### 2.3 供试品溶液的制备

取待测样品 20 片, 除去包衣, 精密称定其质量, 研细, 取约 1.0 g, 精密称定, 加入体积分数为 75% 甲醇 50 mL, 再称定质量, 超声 20 min, 放冷, 用体积分数为 75% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液.

### 2.4 方法学考察

#### 2.4.1 线性关系考察

按 2.2 项下方法制备金丝桃苷对照品溶液, 质量浓度分别为 0.356, 1.780, 3.560, 17.820, 35.640, 178.220, 356.440, 1782.220  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 按 2.1.1 项下色谱条件测定, 以质量浓度为横坐标( $X$ ), 对照品峰面积积分值为纵坐标( $Y$ ), 得到回归方程为:  $Y = 11\,092.2 X - 34\,162.5$ . 结果表明, 金丝桃苷质量浓度在 0.356 ~ 1782.220  $\mu\text{g}/\text{mL}$  之间与峰面积呈良好线性关系,  $r = 0.9999 (n = 8)$ .

#### 2.4.2 精密度试验

精密吸取 2.2 项下的对照品溶液 10  $\mu\text{L}$ , 按 2.1.1 项下色谱条件, 连续进样 9 次, 测得峰面积积分值的平均值为 372 665,  $RSD = 0.03\% (n = 9)$ .

#### 2.4.3 稳定性试验

取同一批号千柏鼻炎片(批号 13 073), 制成供试品溶液, 按 2.1.1 项下色谱条件测定 8 次, 每次间隔 4 h, 测得峰面积积分值平均值为 477 011,  $RSD = 0.35\% (n = 9)$ . 结果表明, 样品在 32 h 内稳定.

#### 2.4.4 重复性试验

取同一批号千柏鼻炎片(批号 13 073), 制成供试品溶液, 按 2.1.1 项下色谱条件外标法测定金丝桃苷的含量(质量分数), 金丝桃苷的平均含量(质量分数)为每片 0.971 7 mg,  $RSD = 0.57\% (n = 6)$ . 结果表明, 该方法重现性良好.

#### 2.4.5 加样回收率试验

取已知含量(质量分数)的千柏鼻炎片(批号 13 073, 0.971 7 mg/片), 除去包衣, 研细, 取 9 份, 每份 0.5 g, 精密称定, 再分别加入金丝桃苷对照品适量, 按 2.3 项下方法制备供试品溶液, 并测定金丝桃苷含量(质量分数), 其平均回收率为 96.90%,  $RSD = 0.41\% (n = 9)$ , 结果见下表 1.

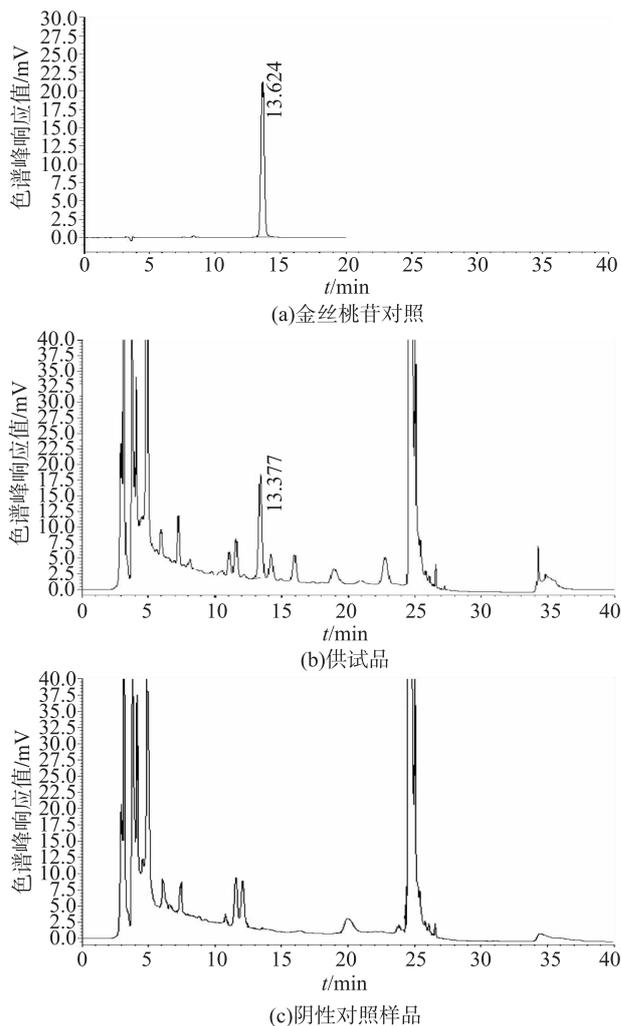


图1 样品的HPLC色谱图

表1 金丝桃苷加样回收率试验结果( $n = 9$ )

取样量/g	测定量/mg	样品中金丝桃苷量/mg	对照品测得量/mg	对照品加入量/mg	回收率/%
0.500 4	1.952 6	1.110 2	0.842 4	0.866 4	97.23
0.502 6	1.954 9	1.115 1	0.839 8	0.872 3	96.27
0.510 2	1.988 8	1.132 0	0.856 8	0.888 2	96.46
0.503 3	2.107 8	1.116 6	0.991 2	1.020 7	97.11
0.504 1	2.102 5	1.118 4	0.984 1	1.011 1	97.33
0.502 8	2.091 7	1.115 5	0.976 2	1.008 5	96.80
0.506 7	2.302 8	1.124 2	1.178 6	1.214 3	97.06
0.508 2	2.359 8	1.127 5	1.232 3	1.266 7	97.28
0.511 4	2.379 2	1.134 6	1.244 6	1.289 3	96.53

### 2.5 样品测定

取不同厂家不同批号的样品共 10 批, 按照 2.2 和 2.3 项下制备对照品溶液和供试品溶液, 按 2.1.1 项下色谱条件测定, 以峰面积积分值外标法计算千柏鼻炎片中金丝桃苷的质量分数, 结果见下表 2.

(下转第 91 页)

院的高血压、肺炎、支气管肺炎等3 a来百分比均比较低,这与蒋彬<sup>[1]</sup>调查上海某院基本药物使用情况分析中非基本药物如抗糖尿病药、抗生素、上呼吸道感染和心脑血管疾病用量排名始终居高不下的结果相似,提示目录中药物不能覆盖某些常见疾病,比如高血压、肺炎、支气管肺炎、糖尿病等疾病的治疗,需要调整增加,因此本文的调查结果可为有关部门修订基本药物目录提供参考. 统计结果也表明,同一病种医院使用的基药品种百分比逐年升高. 李兴德等<sup>[2]</sup>研究结果显示,2009版国家基本药物目录主要针对基层医疗机构制定,对二级以上医院适用性不强;一些临床使用广泛、疗效较好的药品未纳入目录,比如所列入的心血管系统和内分泌系统药品较少,抗肿瘤药物无一列入. 苗玉莲<sup>[3]</sup>的研究结果显示,部分高发病药物缺乏,慢性病药品需求多,基本药物品种少,不能满足临床需要,如糖尿病的胰岛素注射液未列入目录等. 因此,有关部门应在制定目录时给予地方更多的自主权,根据地方病种、用药习惯等选择药品,并将其纳入目录.

由表3可知,2009~2011年有部分非基本药品品种采购金额占采购总金额的百分比较高,这在一定程度说明了医生的用药习惯和对基本药物概念的了解缺乏一定的认知度,这与蒋彬<sup>[1]</sup>的调查分析结

果基本相同,蒋彬认为医务人员对基本药物政策了解不全面,医师受利益驱动开高价药、新剂型、进口药替代原来的普通剂型. 因此建议加大对国家基本药物宣传力度,医院要制定基本药物处方集,而医生要根据病情首选基本药物,各科室要将基本药物使用率纳入考核指标,全面实施国家基本药物制度<sup>[4]</sup>.

综上所述,自2009年基本药物制度实施以来,2009~2011年所统计的两家医院大部分主要病种使用的基本药物品种数占基本药物目录治疗该疾病品种数百分比均在40%以上,提示目录中药物不能覆盖某些常见疾病的治疗范围,需要调整增加,以满足二级以上医院治疗疾病的需要.

#### [参考文献]

- [1] 蒋彬. 我院基本药物的使用分析[J]. 医学信息, 2013, 26(6): 313-315.
- [2] 李兴德, 田静, 张红. 我院2005~2010年基本药物采购情况分析[J]. 中国药房, 2011, 22(48): 4585-4587.
- [3] 苗玉莲. 医院基本药物应用情况分析[J]. 社区医学杂志, 2012, 16(10): 28-30.
- [4] 冯晓敏, 马红燕, 邢雪梅. 2007~2010年我院国家基本药物使用情况统计与分析[J]. 中国医院用药评价与分析, 2011, 11(10): 907-909.

(上接第81页)

表2 样品测定结果(n=10)

批号	质量分数/(mg·片 <sup>-1</sup> )		平均值/(mg·片 <sup>-1</sup> )
13 070	0.964 7	0.958 8	0.961 8
13 071	0.955 3	0.951 4	0.953 4
13 072	0.989 2	0.990 6	0.989 9
13 067	0.815 5	0.810 2	0.812 8
12 049	1.102 7	1.099 8	1.101 2
120 903	0.715 7	0.716 6	0.716 2
121 001	1.003 4	1.011 5	1.007 4
130 202	0.668 3	0.662 2	0.665 2
130 501	0.435 1	0.429 4	0.432 2
130 802	0.844 2	0.848 5	0.846 4

### 3 讨论

1) 千柏鼻炎片是治疗鼻炎鼻窦炎疗效很好的一个中药制剂,现行质量标准中仅有鉴别和常规的检查项目而并无含量(质量分数)测定项目,该标准不能全面地控制药品的内在质量,因此检测该制剂中的有效成分金丝桃苷可更有效地控制药品质量,并进一步规范企业的生产.

2) 金丝桃苷是千里光中的主要黄酮类有效成分<sup>[7]</sup>,采用高效液相色谱法定量检测千里光中的金丝桃苷方法成熟<sup>[8]</sup>. 通过试验研究可以看出,不同厂

家不同批次制剂的金丝桃苷的质量分数存在一定差异,这表明制剂中的主药千里光品质差异较大. 试验采用HPLC外标法测定金丝桃苷,所用方法的准确度、灵敏度、回收率、重现性等方面均可达到药品分析技术的要求,本研究方法及结果可为进一步完善提高该制剂的质量标准提供参考.

#### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.
- [2] 唐翔, 许东晖, 梅雪婷, 等. 26种黄酮类天然活性成分的药理研究进展[J]. 中药材, 2003, 26(1): 46-54.
- [3] 吴斌, 吴立军. 千里光属植物的化学成分研究进展[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(2): 97-100.
- [4] 何忠梅, 白冰, 王慧, 等. 千里光总黄酮体外抗肿瘤和抗病毒活性研究[J]. 中成药, 2010, 32(12): 2045-2047.
- [5] 张文平, 陈惠群, 张文书, 等. 千里光总黄酮的抗炎作用研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(3): 605-607.
- [6] 孟凡君, 张雪君, 谢卫东. 中草药千里光研究进展[J]. 东北农业大学学报, 2010, 41(9): 156-160.
- [7] 陈录新, 马鸿雁, 张勉, 等. 千里光化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(22): 1872-1874.
- [8] 熊爱珍, 杨莉, 杨雪晶, 等. RP-HPLC法测定千里光药材中金丝桃苷的含量[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(5): 936-939.