

表3 Oot-3 加样回收率试验结果

取样品量 /g	样品含量 /mg	对照品加 入量/mg	实测总量 /mg	回收率 /%	平均回收 率/%	RSD/%
1.091 1	2.000 0	1.996	4.002 5	100.3		
1.093 8	2.004 9	1.996	3.985 2	99.2		
1.092 7	2.002 9	1.996	4.010 9	100.6	99.6	0.8
1.095 5	2.008 1	1.996	3.979 9	98.8		
1.092 9	2.003 3	1.996	3.978 4	99.0		

2.4.9 样品含量测定 分别取各地收集到的团螺蛳,按 2.4.3项下制备供试液,按上述色谱条件,吸取供试品溶液 10 μL 注入高效液相色谱仪,并按色谱条件测定记录色谱图,以外标法计算样品中 Oot-3 的含量。结果见表 4。

表4 样品测定结果(n=2)

样品	Oot-3 /%	样品	Oot-3 /%
上海	0.19	北京	0.14
云南	0.31	吉林	0.23
湖北	0.26	山西	0.20
西安	0.17	安徽	0.12
广东	0.10	江苏	0.25

### 3 小结

本试验依照 2005 版中国药典检查项目下的相关规定,根据实验研究的结果综合分析,制定团螺蛳质量标准如下:

团螺蛳水分不得超过 13%,灰分不得超过 10%,酸不溶性灰分不得超过 1%,水浸出物不得低于 9%,乙醇浸出物不得低于 11%,Oot-3 含量不得低于 0.16%。本标准以 10 个不同地区收集的团螺蛳为实验材料,由于样品数量有限,没有对其他省区的样品进行分析,其他产区可以参照此标

准。

### 4 讨论

4.1 团螺蛳的水分测定为 6.2% ~ 11.4%,平均为 7.985%,个别地区的团螺蛳含水量较大,综合考虑,要求水分含量低于 13%;团螺蛳灰分为 7.22% ~ 8.06%,平均为 7.61%;酸不溶性灰分为 0.19% ~ 0.37%,平均为 0.26%。灰分及酸不溶性灰分各地区差异不大;水浸出物 9.45% ~ 11.77%,平均 10.70%;乙醇浸出物 11.41% ~ 13.04%,平均为 12.11%;从浸出物可以看出,不同地区的团螺蛳的内 在质量有一定的相似性。

4.2 本实验选取了从团螺蛳中自行分离得到的 Oot-3(酪氨酸)作为对照品,采用 HPLC 法测定团螺蛳中 Oot-3 含量,方法简便、准确,重现性好,10 个地区团螺蛳中 Oot-3 含量为 0.10% ~ 0.31%,平均为 0.20%。Oot-3 含量限度的制定:10 个不同产地桑螺蛳中 Oot-3 含量测定的平均值为 0.20%,参照相关规定  $0.20\% \times 80\% = 0.16\%$ ,暂定 Oot-3 含量不得低于 0.16%。

4.3 2005 版中国药典上只收录了桑螺蛳的性状<sup>[1]</sup>,无法控制桑螺蛳的质量,本试验初步测定了检查、鉴别、含量测定等项内容,为更好地完善其质量标准提供科学依据。

### 参考文献:

[1] 中国药典[S].一部.2005:211.  
[2] 严善春.资源昆虫学[M].沈阳:东北林业大学出版社,2001: 56-62.  
[3] 张保国,张大禄.动物药[M].北京:中国医药科技出版社, 2003:523-529.

## 治感灵颗粒质量标准的研究

梁少强\*, 谢仕伟\*, 李国荣, 朱寿光, 杨光英, 杨乐  
(广东省东莞市药品检验所,广东 东莞 523109)

关键词:治感灵颗粒;忍冬藤;广东土牛膝;TLC;绿原酸;HPLC

摘要:目的:提高治感灵颗粒的质量标准。方法:增加了忍冬藤和广东土牛膝的薄层色谱鉴别,以及绿原酸的 HPLC 法含量测定。绿原酸色谱条件:色谱柱为 Diamonsil C<sub>18</sub>反相柱(5 μm,250 mm × 4.6 mm) 流动相为乙腈-四氢呋喃-冰醋酸-水(3:5:2:90) 流速为 1.0 mL/min 检测波长为 326 nm 柱温为 35 ℃。结果:薄层色谱鉴别中,在供试品与对照药材色谱相应的位置上,显相同的荧光斑点。HPLC 法含量测定中,绿原酸在 0.117 ~ 2.35 μg(r=0.999) 呈良好的线性关系,平均加样回收率为 98.7%(RSD=2.2%)。结论:所建立方法简便、准确、专属性强、重复性好,能有效的控制治感灵颗粒的质量。

中图分类号:R927.2

文献标识码:B

文章编号:1001-1528(2010)06-1078-03

收稿日期:2009-06-18

作者简介:梁少强(1968-)男,副主任药师,研究方向:药物分析。Tel:13802386232

治感灵颗粒收载于《卫生部药品标准中药成方制剂》第14册<sup>[1]</sup>,由岗梅、金盏银盘、葫芦茶、忍冬藤、广东土牛膝和白茅根六味中药组成,功能为解毒清热,清咽利喉,临床上用于感冒发热、头痛、咽喉肿痛、咳嗽。原标准只有1个理化鉴别项,尚无药材的定性和定量指标。为有效地控制该制剂的质量,本试验建立了忍冬藤、广东土牛膝的薄层色谱法鉴别,以及采用高效液相色谱法(HPLC)对忍冬藤中的绿原酸进行含量测定。

### 1 仪器和试剂

1.1 仪器 高效液相色谱仪(生产厂家:美国 Waters 公司,型号:515型二元泵,717型自动进样器,TCM-II型柱温箱,2996型PDA检测器),电子天平(Sartorius BP211D),超声波清洗器(美国 Branson 公司,型号 B5510E,频率 40 kHz)。

1.2 实验材料 绿原酸对照品(批号:110753-200413,供含量测定用,中国药品生物制品检定所),治感灵颗粒(批号:0608101、0608102、0608103、0608104、0608105,0611101,0612102均由广东一禾药业有限公司生产并提供);乙腈、甲醇为色谱纯(天津市四友生物医学技术有限公司),水为超纯水,其他试剂为分析纯。硅胶 G(薄层色谱用,Merck)。

### 2 方法与结果

2.1 忍冬藤 TLC 鉴别 取本品 5 g,研细,加甲醇 30 mL,超声提取 30 min,过滤,滤液蒸干,残渣加甲醇 2 mL 溶解,过滤,作为供试品溶液。另取忍冬藤对照药材 0.4 g,加甲醇 30 mL,同法制得对照药材溶液。再取缺忍冬藤的阴性样品同法制成阴性对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2005 年版一部附录 VI B)试验,吸取上述 3 种溶液各 5  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-甲酸(8:1:0.5)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 1% 三氯化铝乙醇溶液,置紫外灯 365 nm 下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,阴性样品无此斑点。见图 1。

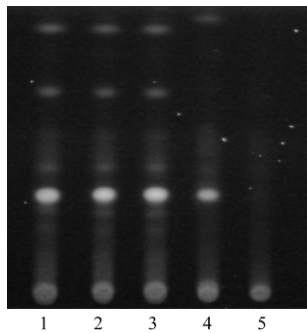


图 1 忍冬藤的薄层色谱图

1-3. 治感灵颗粒样品 4. 忍冬藤对照药材 5. 缺忍冬藤阴性样品

2.2 广东土牛膝 TLC 鉴别 取本品 25 g,研细,加甲醇 50 mL,加热回流提取 30 min,过滤,滤液水浴蒸干,加水 30 mL,振荡使其溶解(必要时超声处理),水溶液置分液漏斗中,用乙酸乙酯提取 3 次,每次 25 mL,合并乙酸乙酯提取液,滤过,水浴蒸干,加 2 mL 乙酸乙酯溶解,滤过,作为供试品溶

液。另取广东土牛膝对照药材 2 g,同法制得对照药材溶液。再取缺广东土牛膝的阴性样品同法制成阴性对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2005 年版一部附录 VI B)试验,吸取上述 3 种溶液各 10  $\mu$ L,分别点于同一硅胶薄层板上,以正己烷-三氯甲烷-甲醇(5:2:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置氨蒸气熏后,置紫外灯 365 nm 下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同绿色荧光斑点,阴性样品无此斑点(见图 2)。

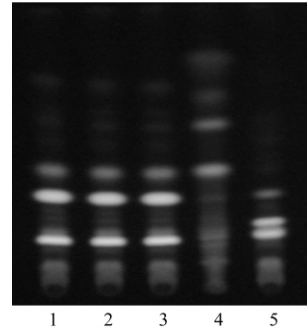


图 2 广东土牛膝的薄层色谱图

1-3. 治感灵颗粒样品 4. 广东土牛膝对照药材 5. 缺广东土牛膝阴性样品

### 2.3 绿原酸的含量测定

2.3.1 色谱条件 色谱柱:Diamonsil C<sub>18</sub>反相柱(5  $\mu$ m, 250 mm  $\times$  4.6 mm);流动相:乙腈-四氢呋喃-冰醋酸-水(3:5:2:90);流速:1.0 mL/min;柱温:35  $^{\circ}$ C;检测波长:326 nm;进样量:10  $\mu$ L。理论塔板数按绿原酸峰计算不得低于 3 000,绿原酸峰与相邻的其他峰的分度应大于 1.5。

2.3.2 绿原酸对照品溶液的制备 取绿原酸对照品适量,精密称定,用甲醇溶解(必要时超声处理)制成每 1 mL 含 50  $\mu$ g 的溶液,即得。

2.3.3 供试品溶液的制备 取本品适量,研细,取约 2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,称定重量,超声处理(功率为 250 W,频率为 40 kHz) 30 min,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3.4 专属性试验 取按处方比例及制法制备的缺忍冬藤阴性样品,按 2.2.3 项下方法制备阴性对照溶液。精密分别吸取上述对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 10  $\mu$ L,依法测定,结果阴性对照无干扰(见图 3)。

2.3.5 线性关系 精密吸取 117.4  $\mu$ g/mL 绿原酸对照品溶液 1、4、8、12、16、20  $\mu$ L 注入液相色谱仪,按 2.3.1 项下色谱条件测定峰面积。以进样量(X)作为横坐标,峰面积(Y)作为纵坐标,绘制标准曲线,得线性方程: $Y = 2.92 \times 10^6 X - 6.55 \times 10^4$ ,  $r = 0.999$ 。结果表明,绿原酸在 0.117 ~ 2.35  $\mu$ g 的范围内呈现良好线性关系。

2.3.6 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液,分别于配制后 0、4、8、12、24 h 进样 10  $\mu$ L,注入液相色谱仪,按 2.3.1 项下色谱条件测定峰面积,结果绿原酸峰面积的 RSD 为 0.45%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

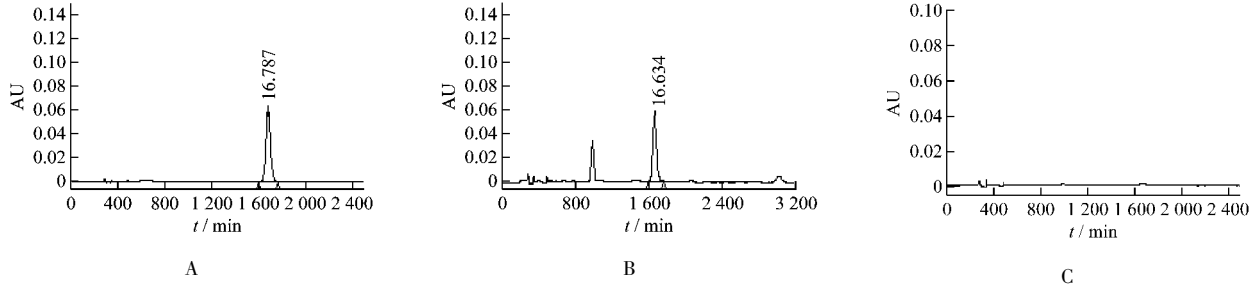


图3 治感灵颗粒的高效液相色谱图

A. 绿原酸对照品 B. 治感灵颗粒样品 C. 缺忍冬藤阴性对照样品

2.3.7 精密度试验 取同一份绿原酸对照品溶液,在2.3.1项色谱条件下重复进样5次,测定,计算绿原酸峰面积的RSD为1.5%,结果表明精密度良好。

2.3.8 重复性试验 取同一批号的治感灵颗粒按2.3.3项下制备方法平行制备6份,测定绿原酸的峰面积,计算绿原酸含量,结果其RSD为1.3%,表明该方法具有良好的重复性。

2.3.9 中间精密度 取同一供试品,通过3个不同操作者,在同一台仪器上,按2.3.1项下含量测定方法,测定供试品中绿原酸的含量,结果RSD为1.8%,表明该方法中间精密度高,重现性良好。

2.3.10 加样回收率试验 分别精密称取绿原酸对照品0.01532g、0.01506g和0.01840g,分别置50mL、20mL和10mL量瓶中,加入甲醇溶解并稀释至刻度,即得母液A、B和C(浓度分别为:A:0.3064mg/mL;B:0.753mg/mL;C:1.84mg/mL)。取同一供试品(批号:0608103;含绿原酸0.747mg/g)9份,按表1加入适量本品和绿原酸对照品,置具塞锥形瓶中,按2.3.3项下制备供试品和2.3.1项下色谱条件测定,计算。结果见表1。

表1 回收率试验结果 (n=9)

样品取 样量/g	样品中 含量/mg	母液加入 量/mL	对照品 加入量/mg	测得总 量/mg	回收率 /%	平均回 收率/%	RSD /%
0.4206	0.3142	1(A)	0.3064	0.6147	98.09		
0.4268	0.3188	1(A)	0.3064	0.6123	95.80		
0.4278	0.3196	1(A)	0.3064	0.6132	95.84		
1.0331	0.7717	1(B)	0.753	1.5079	97.77		
1.0351	0.7732	1(B)	0.753	1.5171	98.79	98.7	2.2
1.0364	0.7742	1(B)	0.753	1.5142	98.28		
2.7100	2.0244	1(C)	1.84	3.8862	101.19		
2.7313	2.0403	1(C)	1.84	3.9028	101.22		
2.7338	2.0421	1(C)	1.84	3.9065	101.32		

2.3.11 样品测定 分别取7批不同批号的治感灵颗粒,按2.3.3项下制备供试品,按2.3.1项下色谱条件进行测定,每批样品平行制备2份,每份样品测定2次,用外标法计算每批样品中绿原酸的含量及RSD。见表2。

### 3 讨论

3.1 本试验经过反复比较供试品提取方法和展开条件,优选了正文的TLC条件对本品中忍冬藤和广东土牛膝进行鉴

表2 样品含量测定结果 (n=4)

样品批号	绿原酸平均含量/(mg/g)	RSD/%
0608101	0.559	0.38
0608102	0.760	0.38
0608103	0.747	1.2
0608104	0.824	0.44
0608105	0.768	0.29
0611101	1.121	0.91
0612102	1.118	0.46

别,结果表明灵敏度高,专属性强,鉴别效果清晰,且操作简便。

3.2 根据中国药典“忍冬藤”项<sup>[2]</sup>及相关文献报道,流动相为乙腈-0.4%磷酸溶剂系统<sup>[3,4]</sup>,发现本品在该系统条件下基线不平,且绿原酸和其相邻杂质分离度不佳;研究表明<sup>[5,6]</sup>,流动相中加入四氢呋喃,基线平稳,且绿原酸峰形尖锐,达到完全分离。最后,考虑到保留时间及pH值等因素,本试验把流动相确定为乙腈-四氢呋喃-冰醋酸-水(3:5:2:90)。

3.3 取同一供试品(批号:0608103)溶液,利用不同色谱柱-Diamonsil C<sub>18</sub>反相柱(5μm,250mm×4.6mm)、Kromasil 100-5 C<sub>18</sub>反相柱(250mm×4.6mm)、Agilent ZORBAX SB-C<sub>18</sub>反相柱(5μm,250mm×4.6mm),按2.3.1项下方法操作,考察供试品在使用不同色谱柱的情况下,绿原酸含量测定结果不受影响的程度,记录峰面积,计算绿原酸在3种色谱柱中测得含量的RSD为2.3%。结果表明,该方法在不同品牌的色谱柱中重现性高,结果准确可靠。

### 参考文献:

[1] 中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂[S].第14册.1998:17.  
[2] 中国药典[S].一部.2005:133.  
[3] 朱昆,侯学谦,李慧萍,等.高效液相色谱法测定金花颗粒中绿原酸的含量[J].特产研究,2009,31(1):57-58.  
[4] 陈怀冰.HPLC法测定感冒灵颗粒中绿原酸的含量[J].海峡药学,2009,21(1):53-54.  
[5] 黄桂红,邓航,黎江,等.HPLC法测定复方感冒灵片中绿原酸的含量[J].中国药师,2009,12(4):539-541.  
[6] 陈乃江,张宏.HPLC测定清热解毒片中绿原酸的含量[J].首都医药,2008,15(16):52.