

HPLC-ELSD 测定芪仙胶囊中黄芪甲苷的含量

★ 魏惠珍¹ 黄周华¹ 方海红² 张国松¹ 罗晓健^{1,2} 杨世林¹ 饶毅^{1,2*} (1. 中药固体制剂制造技术
国家工程研究中心 南昌 330006; 江西中医学院 南昌 330006)

摘要:目的:建立芪仙胶囊中黄芪甲苷的含量测定方法,为芪仙胶囊提供质量控制标准。方法:采用高效液相色谱-蒸发光检测器(HPLC-ELSD)法对芪仙胶囊中黄芪甲苷的含量测定。色谱柱:大连依利特 Hypersil ODS2 C₁₈柱,5 μm×4.6 mm×250 mm;流动相:乙腈-水(31:69);流速:1.0 mL/min。结果:该方法测定芪仙胶囊中黄芪甲苷的含量,线性范围为 2.338~18.704 μg;回收率为 98.79%。结论:本方法快速、简便、重现性好,可作为该制剂的质量控制方法。

关键词:芪仙胶囊;黄芪甲苷;HPLC-ELSD 法

中图分类号:R 284.1 **文献标识码:**A

芪仙汤由黄芪、五倍子等 6 味中药材组成,用于治疗慢性结肠炎。本中心将其研制成芪仙胶囊,建立方中君药黄芪的含量测定方法。本文采用高效液相色谱-蒸发光检测器(HPLC-ELSD)法测定芪仙胶囊中黄芪甲苷的含量。该方法快速、简便,结果稳定、可靠、重现性好,为更好地控制本品的质量提供依据。

1 仪器与试剂

Waters2695/2996 高效液相色谱仪,蒸发光散射检测器 Alltech2000, Empower 色谱工作站;芪仙胶囊由中药固体制剂制造技术国家工程研究中心研制,批号为:20061101、20061102、20061103)。

2 实验方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:大连依利特 Hypersil ODS2 C₁₈柱,5 μm×4.6 mm×250 mm;流动相:乙腈-水(31:69);流速:1.0 mL/min。蒸发光散射检测器参数:漂移管温度为 101.1 ℃,载气为空气,气体流速为 2.7 L/min,压力 4 kPa。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取黄芪甲苷对照品适量,加甲醇制成每 1 ml 含黄芪甲苷 0.4676 mg 的溶液,即可。

2.2.2 供试品溶液 取装量差异项下的本品,研细,取约 5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加甲醇 100 ml,冷浸过夜,超声处理 30min,滤过,滤渣再加甲醇 50 ml,超声处理 30min,滤过,合并滤液,蒸干,残渣加水 30 ml 使溶解,移入分液漏斗中,用水饱和的正丁醇振摇提取 6 次,每次 25 ml,合并正丁醇液,用氨试液充分洗涤 3 次,每次 30 ml,弃去氨液,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇 5 ml 使溶解,通过 D101 型大孔树脂柱(内径 2.0 cm,长 10 cm)以水 50 ml 洗脱,弃去水液,再用 70% 乙醇 120 ml 洗脱,收集洗脱液,蒸干,用甲醇溶解并转移

至 2ml 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.3 缺黄芪阴性供试品溶液 取处方中缺黄芪药材的阴性对照样品,照供试品溶液的制备方法制备,即得。

2.3 线性关系考察

取浓度为 1.8704 mg/ml 的对照品溶液,用甲醇逐步稀释至浓度为 1.4028、1.169、0.9352、0.4676、0.2338 mg/ml,各进样 10 μl,检测峰面积(A),以 $\ln A \sim \ln C$ (C 代表进样的量 μg) 进行线性回归,得到线性方程为: $\ln A = 1.6138 \times \ln C + 10.913$, $r = 0.9998$,线性范围为 2.338~18.704 μg。

2.4 精密度试验

取对照品溶液,连续进样 6 次,每次 10 μl,测得峰面积,黄芪甲苷峰面积 RSD 值为 0.97%。

2.5 重复性试验

称取芪仙胶囊样品 6 份,按“供试品溶液的制备”项下进行处理并测定,每份重复进样 2 次,以峰面积平均值计算含量,结果黄芪甲苷含量的 RSD 值为 1.85%。

2.6 稳定性试验

取供试品溶液,自溶液配制后分别在 0、2、4、8、12、24 h,进样 10 μL,依法测定,结果黄芪甲苷 RSD 为 1.07%,表明样品在 24 h 内稳定。

2.7 加样回收试验

称取芪仙胶囊样品 6 份,分别按相当于样品中黄芪甲苷含量的 80%、100%、120% 加入对照品($n=2$),按“供试品溶液的制备”项下进行处理并测定,计算,黄芪甲苷平均回收率为 98.79%,RSD 为 1.96%。

2.8 样品测定

称取三批芪仙胶囊样品,精密称定,按“供试品溶液的制备”项下进行处理并测定,以外标两点法对数方程计算,结果见表 1。

* 通讯作者:饶毅,江西省南昌市人,博士,教授,硕士生导师,从事中药质量控制和分析化学工作,Tel:0791-7119609

桂枝茯苓片质量标准的研究

★ 张加余 代龙 曹广尚 郭俊国 (山东中医药大学 济南 250014)

关键词:桂枝茯苓片;质量标准;TLC;HPLC

中图分类号:R 282.7 文献标识码:A

桂枝茯苓片是由桂枝、茯苓、牡丹皮等药物组成,具有活血化瘀、缓消癥块的功效,用于妇女血瘀所致下腹宿有癥块,月经量多或漏下不止,血色紫暗,多血块,小腹隐痛或腹痛拒按,舌暗有瘀斑,脉涩或细^[1]。为控制产品内在质量,建立了本品定性鉴别和含量测定的方法。

1 仪器与试药

LC-2010A 高效液相色谱仪(日本岛津,SPD-10AVP 检测器,Class-VP 工作站);KQ-250E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。丹皮酚对照品(批号 110708-200605)、桂皮醛对照品(批号 110710-200513)、芍药苷对照品(批号 110736-200526)和茯苓对照药材(批号 121117-200504)均购自中国药品生物制品检定所;甲醇为色谱纯,水为重蒸水,其它所用试剂均为分析纯;桂枝茯苓片(江苏康缘药业股份有限公司),阴性样品(自制)。

2 薄层鉴别

2.1 茯苓的鉴别 取本品 6 片,除去包衣,研细,加甲醇 30 ml,超声提取 30 min,滤过,滤液水浴蒸干,残渣加水 15 ml 使溶解,用乙醚提取 3 次,每次 20

ml,合并乙醚液,水液备用,挥干乙醚液,残渣加甲醇 2 ml 使溶解,作为供试品溶液;取缺茯苓药材的阴性样品,同法制成阴性对照溶液;另取茯苓对照药材 2 g,同法制成对照药材溶液。吸取上述 3 种溶液各 10 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)-丙酮-乙酸乙酯(84:15:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同的蓝色荧光主斑点($R_f=0.49$),阴性样品无干扰。

2.2 桂枝的鉴别 取缺桂枝药材的阴性样品,依法制成阴性对照溶液;另取桂皮醛对照品适量,加甲醇制成每 1 ml 含 2 μ l 的溶液,作为对照品溶液。吸取对照品溶液、阴性对照溶液和“2.1”项下供试品溶液各 5 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)-乙酸乙酯(17:3)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以二硝基苯肼乙醇试液。结果供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同的橙色主斑点($R_f=0.38$),阴性样品无干扰。

2.3 白芍的鉴别 取“2.1”项下剩余水液用水饱和

表 1 芪仙胶囊中黄芪甲苷含量测定结果($n=3$)

样品批号	黄芪甲苷含量/ $\text{mg}\cdot\text{粒}^{-1}$
20061101	0.185
20061102	0.178
20061103	0.183

3 讨论

3.1 检测方法的选择 黄芪甲苷为皂苷类成分,皂苷类成分紫外吸收波数较低,用紫外检测器检测时,干扰很大,无法正常检测。蒸发光散射检测器(ELSD)为质量型通用检测器,与检测物质性质无关^[1,2]。经实验得出,ELSD 用于黄芪甲苷的含量测定,重现性、稳定性、灵敏度均能符合含量测定的要求。

3.2 检测参数的优化 决定 ELSD 的检测效果与载气速度

和漂移管温度两个基本参数有关。在 ELSD 检测中,当载气流速太低时,雾化后的样品易聚集形成微液滴,影响检测;当载气流速太快时,不利于样品的分离。漂移管温度太低时,溶剂挥发不够完全造成基线不平;温度太高时,可能造成样品的挥发,影响检测结果。本实验的最终优化条件为:漂移管温度为 101.1 $^{\circ}$ C,载气为空气,气体流速为 2.7 L/min,压力 4 kPa。

参考文献

- [1]刘鹏,周军. 高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定花芪通脉颗粒中黄芪甲苷的含量[J]. 医药导报, 2006, 11(25): 1197-1198.
- [2]王光忠,胡克. 高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定静心胶囊中黄芪甲苷的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2006, 9(26): 1065-1067.

(收稿日期:2007-01-29)