

HPLC-ELSD 法测定周络通胶囊中知母皂苷 BII

王贵金, 裴彩云, 贾继明, 郑亚杰, 宋 剑*

河北以岭医药研究院, 河北 石家庄 050035

摘要: 目的 建立 HPLC-ELSD 法测定周络通胶囊中知母皂苷 BII 的方法。方法 采用 ES AquaSep C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以乙腈-水 (24:76) 为流动相, 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 °C; ELSD 检测器, 漂移管温度为 75 °C, 加热级别为 66%, 载气压力为 172.4 kPa。结果 知母皂苷 BII 在 0.62~7.79 μg 呈良好的线性关系, 平均回收率为 98.75%, RSD 1.77%。结论 该方法简便快捷、准确可靠, 为周络通胶囊的质量控制提供了依据。

关键词: HPLC-ELSD; 周络通胶囊; 知母皂苷 BII

中图分类号: R927.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2011)03-0187-03

Determination of timosaponin BII in Zhouluotong Capsule by HPLC-ELSD

WANG Gui-jin, PEI Cai-yun, JIA Ji-ming, ZHENG Ya-jie, SONG Jian

Hebei Yi-ling Pharmaceutical Institute, Shijiazhuang 050035, China

Abstract: Objective To establish a method for determining timosaponin BII in Zhouluotong Capsula by HPLC-ELSD. **Methods** ES AquaSep C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used; The column temperature maintained at 30 °C of the ELSD; The mobile phase consisted of acetonitrile-water (24 : 76) at a flow rate of 1.0 mL/min; The temperature of drift tube was 75 °C; The heating level was 66% and the nebulizer nitrogen pressure was 172.4 kPa. **Results** Timosaponin BII had a good linearity relationship in the range of 0.62—7.79 μg. The average recovery was 98.75% (RSD = 1.77%). **Conclusion** The method is rapid, simple, and accurate, and could be used for quality control of Zhouluotong Capsula.

Key words: HPLC-ELSD; Zhouluotong Capsula; timosaponin BII

周络通胶囊由黄芪、生地、鸡血藤、知母、桂枝、桑枝、地龙等组成, 具有通络、祛瘀、止痛的功效, 在临床用于糖尿病周围神经病变的治疗。目前知母的定量测定方法较多, 一般都是以菝葜皂苷元为对照品, 采用薄层色谱扫描法^[1]、HPLC-RI 法^[2]、HPLC-ELSD 法^[3-4]、GC-MS^[5]、UV^[6]等测定知母中总皂苷的量。为了更好地控制制剂的质量, 本实验采用 HPLC-ELSD 法, 选取知母皂苷 BII 为指标测定了周络通胶囊中知母皂苷 BII。

1 仪器与试剂

Waters2695—2424 型 HPLC 仪 (包括四元泵、在线脱气机、蒸发光检测器、柱温箱、100 μL 进样阀、化学工作站等), 乙腈 (色谱纯), 水 (超纯水), 其余试剂均为分析纯。对照品知母皂苷 BII (批号 A0338), 在选定的色谱条件分离后, 按面积归一化

法计算, 其质量分数大于 98%。周络通胶囊 (自制, 批号: 100501, 100601, 100701)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 AquaSep C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm, ES 公司), 流动相为乙腈-水 (24:76), ELSD 检测器漂移管温度 75 °C, 加热级别 66%, 载气压力 172.4 kPa, 柱温 30 °C, 体积流量 1.0 mL/min, 供试品进样量 15 μL, 对照品进样量 10、30 μL。理论塔板数以知母皂苷 BII 计不少于 6 000。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取知母皂苷 BII 对照品 10.38 mg 置 10 mL 量瓶中, 加 25%乙腈溶解并稀释至刻度, 摇匀, 做为母液。精密量取 1 mL 置 10 mL 量瓶中, 加 25%乙腈稀释至刻度, 摇匀,

收稿日期: 2011-02-18

基金项目: 河北省科技厅支撑课题 (062761789); 石家庄市科技支撑计划 (09120093A)

作者简介: 王贵金 (1980—), 男, 硕士, 主要从事中药新药研究。E-mail: guijinwang@126.com

*通讯作者: 宋 剑 E-mail: songjian@yiling.cn

作为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取周络通胶囊内容物 2.0 g, 精密称定, 置具塞三角瓶中, 精密加入 25% 乙腈 50 mL, 称质量, 超声提取 60 min, 放冷, 用 25% 乙腈补足减失的质量, 取续滤液 25 mL, 回收溶剂至近干, 残渣用约 50 mL 水溶解, 通过 AB-8 大孔吸附树脂柱 (内径 1.5 cm, 长 10 cm), 分别用氨试液 50 mL、20% 乙醇 50 mL 洗脱, 弃去; 再用 80% 乙醇 100 mL 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣用 25% 乙腈溶解, 并转移至 10 mL 量瓶中, 加 25% 乙腈至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。

2.2.3 阴性样品溶液的制备 按制剂工艺制备不含知母样品, 同“2.2.2”项下方法, 制备阴性样品溶液。

2.3 专属性试验

精密量取供试品溶液、对照品溶液、阴性样品溶液各 15 μ L, 分别注入液相色谱仪, 按上述色谱条件测定, 结果见图 1。可知阴性样品在供试品和对照品知母皂苷 BII 色谱峰位置上无干扰, 方法专属性良好。

2.4 线性范围考察

精密吸取“2.2.1”项下的母液 1.0 mL, 共 5 份, 加 25% 乙腈分别稀释 2、5、10、12.5、25 倍, 制得系列质量浓度对照品溶液。精密吸取上述不同质量浓度对照品溶液各 15 μ L, 注入液相色谱仪, 按上述色谱条测定, 记录知母皂苷 BII 的峰面积 (A) 值, 并以 A 值的自然对数与进样量 (M) 的自然对数进行线性回归, 得回归方程, $\ln A = 1.778\ 7 \ln M + 12.139$, $r = 0.999\ 7$ 。结果表明, 知母皂苷 BII 进样量在 0.62~7.79 μ g, 其峰面积自然对数与进样量自然对数有良好的线性关系。

2.5 精密度试验

精密吸取对照品溶液 15 μ L, 注入液相色谱仪, 连续进样 6 次, 按上述色谱条件测定, 结果知母皂苷 BII 峰面积 RSD 为 1.04%。

2.6 稳定性试验

精密吸取供试品溶液, 按上述色谱条件, 分别于 0、4、8、12、16、20、24 h 测定, 计算供试品中知母皂苷 BII 的质量分数, RSD 为 0.82%, 表明供试品在 24 h 内稳定。

2.7 重现试验

取同一批号 (100501) 样品 9 份, 精密称定, 按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 精密吸取

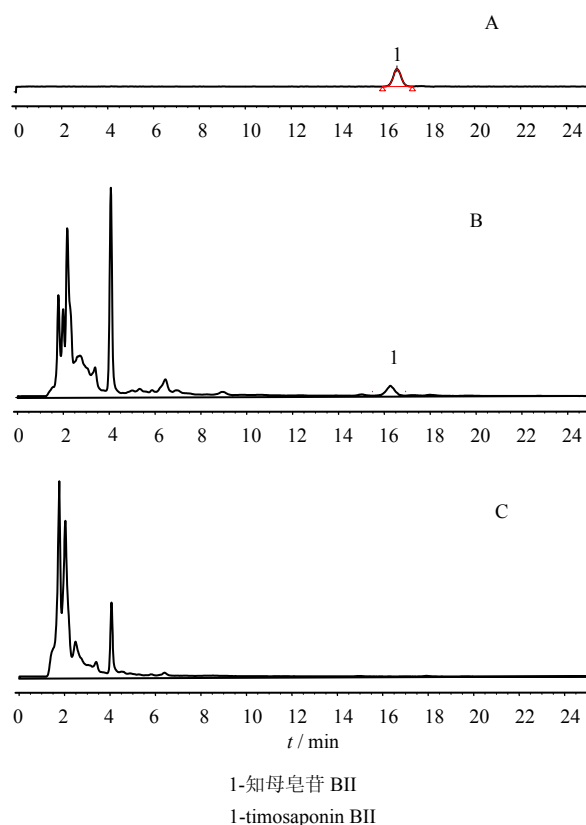


图 1 知母皂苷 BII 对照品 (A)、周络通胶囊供试品 (B)、不含知母的阴性样品 (C) 的色谱图

Fig. 1 Chromatograms of timosaponin BII reference substances (A), Zhoulutong Capsule (B), and sample Capsula without *Anemarrhena Rhizoma* (C)

对照品溶液及供试品溶液按上述色谱条件测定, 计算知母皂苷 BII 的质量分数, RSD 为 1.63%。

2.8 加样回收率试验

称取同一批号 (100501) 样品 9 份, 每份 1.0 g, 精密称定, 分 3 组, 每组按样品中知母皂苷 BII 量的 80%、100%、120% 分别精密加入对照品, 按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 精密吸取对照品溶液及供试品溶液, 按上述色谱条件测定, 计算知母皂苷 BII 的量, 结果知母皂苷 BII 的平均回收率为 98.75%, RSD 为 1.77%。

2.9 样品测定

取 3 批样品, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 精密吸取对照品溶液及供试品溶液按上述色谱条件测定, 计算知母皂苷 BII 的量, 结果见表 1。

3 讨论

3.1 样品处理

由于制剂中药味较多、成分复杂、含糖量较高等原因, 为了降低测定中其他成分对知母皂苷 BII

表1 周络通胶囊中知母皂苷 BII 测定结果

Table 1 Determination of timosaponin BII in Zhouluotong Capsula

批号	知母皂苷 BII/(mg·g ⁻¹)
100501	1.45
100601	1.48
100701	1.43

的干扰,本课题组比较了液液萃取、固相萃取小柱、D330 阴离子树脂和 AB-8 大孔吸附树脂等前处理方法,结果大孔吸附树脂除杂效果最佳,为了保证知母皂苷 BII 测定的准确性,笔者选择了 AB-8 大孔吸附树脂作为样品除杂方法。

3.2 色谱条件的选择

参考《中国药典》2010 年版一部的比例,色谱柱由 C₈ 换成 C₁₈,通过调整流动相比比例,供试品中

知母皂苷 BII 达到基线分离,故选择为本实验的流动相系统。

参考文献

- [1] 中国药典 [S].一部. 2010.
- [2] 王天勇,杨文远. 反相高效液相色谱法分离测定知母中知母皂苷 BII [J]. 中药材, 1996, 19(9): 460.
- [3] 沈 岚,朱沪平,宋 崎,等. RP-HPLC-ELSD 测定知母药材及含知母制剂中知母皂苷 BII 的含量 [J]. 中草药, 2001, 32(10): 889-891.
- [4] 沙东旭,陈桂范,张满来. 高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定知母中菝葜皂苷元的含量 [J]. 药物分析杂志, 2005, 25(8): 952.
- [5] 梁卫文,赵邦爱,杨淑华,等. 不同方法提取的知母总皂苷元气相-质谱分析 [J]. 中草药, 2002, 33(12): 1073.
- [6] 梁卫文,赵邦爱,杨淑华. 紫外分光法测定知母总皂苷元的含量 [J]. 中草药, 2002, 33(7): 621-622.

中草药 杂志社 售过刊信息

天津中草药杂志社是经国家新闻出版总署批准于 2009 年 8 月在天津滨海新区注册成立。编辑出版《中草药》、Chinese Herbal Medicines (CHM, 中草药英文版)、《现代药物与临床》(2009 年由《国外医药·植物药分册》改刊)、《药物评价研究》(2009 年由《中文科技资料目录·中草药》改刊)。欢迎投稿,欢迎订阅。

《中草药》杂志合订本: 1974-1975 年、1976 年、1979 年、1988-1993 年 (80 元/年), 1996、1997 年 (110 元/年), 1998 年 (120 元/年), 1999 年 (135 元/年), 2000 年 (180 元/年), 2001-2003 年 (200 元/年), 2004 年 (220 元/年), 2005 年 (260 元/年), 2006-2008 年 (280 元/年), 2009—2010 年 (400 元/年);

《中草药》增刊: 1996 年 (50 元), 1997 年 (45 元), 1998 年 (55 元), 1999 年 (70 元), 2000、2001 年 (70 元), 2002-2007 年 (65 元/年), 2008、2009 年 (55 元/年)。凡订阅《中草药》杂志且提供订阅凭证者, 购买增刊 7 折优惠, 款到寄刊。

CHM: 2009-2010 年合订本 (300 元)

《现代药物与临床》合订本: 2009—2010 年 (100 元/年)。

《国外医药·植物药分册》合订本: 1996~2008 年 (80 元/年), 2006~2008 年 (90 元/年)。

《药物评价研究》2009 年单行本, 每册 15.00 元; 2010 年合订本, 100 元/年

《中文科技资料目录·中草药》: 1993-2006 年合订本 (全套 2040 元), 2007-2008 年单行本, 每册定价 30.00 元, 全年订价 210.00 元 (6 期+年索引)

天津中草药杂志社

地址: 天津市南开区鞍山西道 308 号

电话: (022) 27474913 23006821

电子信箱: zcy@tiprpress.com

开户银行: 兴业银行天津南开支行

户名: 天津中草药杂志社

邮编: 300193

传真: (022) 23006821

网址: www. 中草药杂志社. 中国或 www. tiprpress. com

账号: 44114010010081504