

HPLC-ELSD 法测定龙加通络胶囊中的薯蓣皂苷

任为之, 王现昌, 于丽云, 李云鹏, 段丽萌, 王顺仙

天津世纪天龙药业有限公司, 天津 301741

摘要: 目的 建立 HPLC 法测定龙加通络胶囊中薯蓣皂苷。方法 采用 Diamonsil C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 mm) 色谱柱, 流动相为乙腈-水 (55:45), 体积流量 1.0 mL/min, 设置温度 90 ℃, 气流量 2.4 L/min, 柱温 35 ℃。结果 薯蓣皂苷在 1.03~6.18 μg 与峰面积呈良好的线性关系 ($r=0.999\ 8$), 平均回收率 100.96%, RSD=1.97%。结论 本方法简便、准确、重复性好, 可用于龙加通络胶囊中薯蓣皂苷的质量控制。

关键词: HPLC-ELSD; 薯蓣皂苷; 龙加通络胶囊; 含量测定

中图分类号: R917 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2014)06-0529-02

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2014.06.012

Determination of dioscin in Longjia Tongluo Capsule by HPLC-ELSD

REN Wei-zhi, WANG Xian-chang, YU Li-yun, LI Yun-peng, DUAN Li-meng, WANG Shun-xian

Tianjin Shijitianlong Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 301741, China

Abstract: Objective To establish a method for the content determination of dioscin in Longjia Tongluo Capsule by HPLC. **Methods** The Diamonsil-C₁₈ (250 mm ×4.6 mm, 5 mm) column was used. The mobile phases consisted of acetonitrile and water (55:45); The flow rate was 1.0 mL/min, the set temperature was 90 ℃, the gas flow was 2.4 L/min, and the column temperature was 35 ℃. **Results** The linear range of dioscin was 1.03—6.18 μg ($r = 0.999\ 8$), the average recovery was 100.96%, with RSD of 1.97%. **Conclusion** The method is simple, accurate, and reproducible, and it can be used in the quality control in Longjia Tongluo Capsule.

Key words: HPLC-ELSD; dioscin; Longjia Tongluo Capsule; content determination

龙加通络胶囊是天津世纪天龙药业有限公司生产的中药六类新药, 具有活血化瘀、益气通络之功效。临床用于中风病 (轻中度脑梗塞) 恢复期气虚血瘀证, 证见半身不遂, 口舌歪斜, 语言蹇涩或不语, 偏身麻木, 手足肿胀, 舌暗或有瘀斑, 苔薄白等。现有的龙加通络胶囊质量标准是采用高效液相色谱法对成品中的薯蓣皂苷元进行测定, 但在生产实践中感到现有测定薯蓣皂苷元含量的方法须经酸水解、萃取、调节 pH 值等步骤^[1], 操作繁琐, 检测时间长, 易产生误差。为此, 经过实验摸索, 以薯蓣皂苷为指标成分, 建立高效液相色谱-蒸发光散射检测 (HPLC-ELSD) 法测定成品中薯蓣皂苷的方法, 既与《中国药典》2010 年版穿山龙含量测定薯蓣皂苷成分一致^[2], 而且本法较原方法操作简便快速、准确、重复性好, 更适于大生产的要求。可用于该制剂的质量控制。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Agilent 1260 高效液相色谱 (美国安捷伦公司); Alltech 2000ES ELSD 检测器; 9860D 超声波清洗器 (天津科贝尔光电技术有限公司); 电子分析天平 (梅特勒-托利多公司)。

1.2 试药

薯蓣皂苷对照品 (供含量测定用, 批号 111707-200501) 由中国食品药品检定研究院提供; 乙腈 (色谱纯, 天津康科德科技有限公司); 其余试剂均为分析纯, 市售。龙加通络胶囊由天津世纪天龙药业有限公司生产, 规格为 0.45 g/粒, 批号 1312203、1312204、1312205)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Diamonsil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 mm), 流动相为乙腈-水 (55:45), 体积流量为 1.0 mL/min, 设置温度为 90 ℃, 气体体积流量设置为 2.4 L/min, 柱温为 35 ℃, 理论板数以薯蓣皂苷峰计算应不低于 4 000。

收稿日期: 2014-07-10

作者简介: 任为之, 天津世纪天龙药业有限公司董事长, 高级职称, 从事公司筹建、生产科研指导工作。E-mail: sjtiren@126.com

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取薯蓣皂苷对照品 5.15 mg, 置 5 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀; 精密量取 2 mL 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 龙加通络胶囊内容物研细, 取约 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定质量。超声处理 (功率 120 W, 频率 40 kHz) 30 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 取缺穿山龙的处方药, 按制备工艺制成阴性样品, 按供试品溶液处理方法制成阴性对照液。

2.3 方法学考察

2.3.1 专属性试验 精密吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性样品溶液适量, 注入液相色谱仪, 按“2.1 项”下色谱条件实验, 结果表明供试品色谱中薯蓣皂苷色谱峰与其他成分的色谱峰分离良好, 且阴性样品溶液色谱峰未见干扰 (图 1)。

2.3.2 线性关系 精密吸取薯蓣皂苷对照品溶液 (0.206 mg/mL) 5、10、15、20、25、30 μ L, 注入高效液相色谱仪, 测定色谱峰面积, 以峰面积对数值为纵坐标, 进样量 (μ g) 对数值为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程: $Y = 1.678 \ 4X + 5.7976$ ($r = 0.999 \ 8$)。结果表明, 薯蓣皂苷在 1.03~6.18 μ g 线性关系良好。

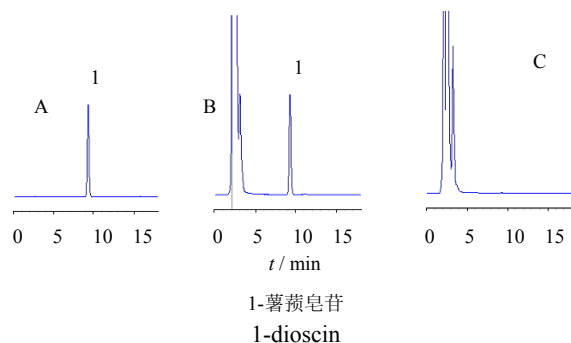


图 1 对照品溶液 (A)、供试品溶液 (B)、阴性样品溶液 (C) 高效液相色谱图

Fig. 1 HPLC of reference solution (A), test sample (B), and negative sample (C)

2.3.3 精密度试验 取“2.2.1 项”下配制的对照品溶液, 重复进样 6 次, 得薯蓣皂苷峰面积 RSD = 0.94%, 结果表明本方法精密度较好。

2.3.4 稳定性试验 取同一制备样品溶液 (批号 1312203), 分别于 0、2、4、6、8、12、24、26、

28 h 进样测定, 得薯蓣皂苷进样量的 RSD = 1.1%, 结果表明供试品溶液在 28 h 内稳定。

2.3.5 重复性试验 取同一制备样品溶液 (批号 1312203), 按“2.2.2 项”下方法制备 6 份样品溶液, 按“2.1 项”下色谱条件分别测定, 结果该批样品每粒中含薯蓣皂苷的平均值为 3.58 mg, RSD = 1.71% ($n = 6$), 表明所用方法重复性好。

2.3.6 加样回收率试验 取已测定含量的样品适量, 共 6 份, 精密称定, 分别精密加入对照品, 按“2.2.2 项”下方法, 制备供试液, 依“2.1 项”下色谱条件测定, 计算加样回收率, 试验结果表明平均回收率为 100.96%, RSD 值为 1.97%。

2.4 样品测定

取龙加通络胶囊 3 批, 分别按“2.2.2 项”下方法制备样品溶液, 依“2.1 项”下色谱条件测定, 外标法计算薯蓣皂苷, 结果见表 1。

表 1 样品测定结果
Table 1 Results of sample test

批号	薯蓣皂苷/(mg·粒 ⁻¹)	RSD/%
1312203	3.58	1.71
1312204	3.75	1.38
1312205	3.31	1.80

3 讨论

在对成品薯蓣皂苷含量测定的方法研究中, 参考了《中国药典》2010 年版一部收载的穿山龙药材薯蓣皂苷含量测定方法, 但因龙加通络胶囊为复方中药制剂, 以 203 nm 的紫外末端作为检测波长, 基线不平, 干扰大, 使检测的灵敏度降低。故无法完全按药典方法对龙加通络胶囊进行含量测定。经摸索建立了薯蓣皂苷的 HPLC-ELSD 测定法。研究表明, 选用蒸发光散射检测器作为检测手段, 对成品中薯蓣皂苷进行分析, 克服了在紫外末端检测时流动相带来的干扰, 所得图谱基线平直, 灵敏度高, 与杂质有很好的分离度, 提高了方法的专属性, 测定结果更为准确。经方法学考察表明, 本方法操作简便、准确、重复性好, 可用于龙加通络胶囊的质量控制。

参考文献

- [1] 李艳荣, 李 强, 洪 霞, 等. HPLC-ELSD 法测定穿山龙中薯蓣皂苷元的含量 [J]. 承德医学院学报, 2011, 28(2): 126-128.
- [2] 中国药典 [S]. 一部, 2010.