

HPLC 法测定七神喉痹通颗粒中岩白菜素的含量

陶 玲,王永林,王爱民,何 迅,李勇军,刘丽娜

(贵阳医学院 药理学系,贵州 贵阳 550004)

七神喉痹通颗粒为贵州省苗族药,由野烟叶、羊耳菊、矮地茶等组成。具有清热解毒、利咽止痛之功效。临床用于急喉痹(急性咽炎)、急乳蛾(急性扁桃腺炎)表现的咽喉肿痛有显著疗效。矮地茶中含岩白菜素、紫金牛酚Ⅰ、紫金牛酚Ⅱ、紫金牛素B、冬青醇、槲皮素、槲皮苷、杨梅苷等。岩白菜素是矮地茶主要有效成分之一,具有镇咳祛痰作用,故选取岩白菜素作为七神喉痹通颗粒含量测定指标。岩白菜素含量测定的文献报道有紫外分光光度法^[1]、薄层扫描法^[2]、高效液相色谱法^[3,4]。本实验采用高效液相色谱法测定岩白菜素的含量,并对测定方法进行了研究,制定了七神喉痹通颗粒中岩白菜素的含量限度。

1 仪器与试剂

LC—10Avp 高效液相色谱仪(日本岛津),包括 LC—10Avp 泵、SPD—10Avp 紫外-可见光检测器、Rheodyne7725i 进样阀、T100 柱温箱(天津特纳)、N2000 色谱数据工作站(浙江大学),UV—2401PC 紫外-可见分光光度计(日本岛津)。

七神喉痹通颗粒及阴性对照由贵阳医学院药物研究开发中心临床前药物研究所提供,岩白菜素对照品(中国药品生物制品检定所,批号:1532-200001),乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱:Kromasil C₁₈(200 mm×5.0 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(8:92);体积流量:1.0 mL/min;柱温:35℃;检测波长:274 nm。

2.2 岩白菜素对照品纯度检查:精密称取岩白菜素对照品适量,用甲醇制成 1 mg/mL 的对照品溶液。分别吸取对照品溶液和空白试剂各 20 μL,注入液相色谱仪,记录色谱图。除去甲醇溶剂峰后,按峰面积归一化法计算岩白菜素纯度为 99.16%。

2.3 对照品溶液的制备:取经五氧化二磷干燥过夜的岩白菜素对照品适量,加甲醇制成 0.15 mg/mL 的溶液,即得。

2.4 供试品溶液的制备:取七神喉痹通颗粒研细,

精密称定 1.5 g,置具塞三角烧瓶中,精密加入 70% 甲醇 10 mL,密塞,超声处理 20 min,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,即得。同法制备矮地茶的阴性对照溶液。

2.5 系统适用性试验:分别取岩白菜素对照品溶液、供试品溶液及阴性对照溶液各 5 μL,注入高相液相色谱仪,记录色谱图(图 1)。可见,样品色谱分离良好,阴性对照图谱在岩白菜素峰位置处无假阳性峰。理论塔板数以岩白菜素峰计为 4 800,与杂质峰分离良好,分离度大于 1.5。故定理论塔板数以岩白菜素计,应不低于 4 000。

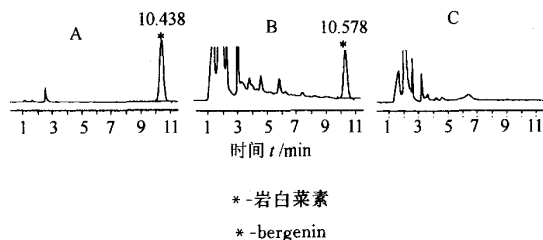


图 1 岩白菜素(A)、七神喉痹通颗粒(B)和矮地茶的阴性对照(C)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of bergenin (A), Qishen Houbitong Granula (B), and negative sample without *Ardisia japonica* (C)

2.6 线性关系考察:精密称取岩白菜素对照品适量,用甲醇溶解并制成 0.984 mg/mL 的对照品溶液,备用。分别精密吸取上述溶液 0.5、1、2、4、8 mL 于 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀。分别吸取 5 μL 注入高相液相色谱仪,测定。以峰面积积分值为纵坐标,进样量为横坐标绘制标准曲线,得回归方程为 $Y = 406\,968 X + 5\,519$, $r = 0.999\,9$ 。可见岩白菜素在 0.246~3.936 μg 与峰面积呈良好线性关系。

2.7 精密度试验:精密吸取同一供试品溶液 5 μL,重复进样 5 次,测定,并计算得岩白菜素质量分数为 0.861 3 mg/g, RSD 为 1.06%。

2.8 重现性试验:取同一批样品,制备 5 份供试品溶液,分别进样 5 μL,测定峰面积,计算得岩白菜素

质量分数为 0.863 9 mg/g, RSD 为 2.35% ($n=5$)。

2.9 稳定性试验:取同一样品,制备供试品溶液,分别于 0、1、2、4、6 h 进样,每次 5 μ L,结果岩白菜素质量分数的 RSD 为 0.53%,说明供试品溶液中岩白菜素在 6 h 内是稳定的。

2.10 回收率试验:精密量取已测定含量的同一供试品(岩白菜素质量分数为 0.863 9 mg/g)5 份,各 0.75 g,加入岩白菜素对照品适量,制备供试品溶液,精密吸取供试品溶液 5 μ L 进样,测定,结果岩白菜素的平均回收率为 101.6%,RSD 为 1.44%。

2.11 样品测定:取本品 10 批,制备供试品溶液,分别取供试品溶液和对照品溶液各 5 μ L,进样测定,结果见表 1。可见 10 批样品中岩白菜素在 0.42~0.85 mg/g,故定本品以岩白菜素($C_{14}H_{16}O_9$)计不得低于 0.40 mg/g。

表 1 七神喉痹通颗粒中岩白菜素测定结果 ($n=2$)

Table 1 Determination of bergenin in Qishen Houbitong Granule ($n=2$)

批 次	岩白菜素 /(mg·g ⁻¹)	批 次	岩白菜素 /(mg·g ⁻¹)
20000125	0.46	20010614	0.46
20000316	0.43	20011106	0.48
20000314	0.42	20020312	0.42
20000706	0.53	20020324	0.85
20000311	0.45	20020327	0.78

3 讨论

3.1 在 190~360 nm 测试岩白菜素对照品溶液的吸收光谱,岩白菜素在 215 nm 和 274 nm 均有吸收,选择 274 nm 作为检测波长,杂质对测定无干扰。

3.2 试验中选择了 Kromasil C₁₈ (200 mm×5.0 mm, 5 μ m)、Hypersil ODS (150 mm×4.6 mm, 5 μ m)、Sepucol C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μ m) 色谱柱;流动相采用甲醇-水、乙腈-水系统,均能分离矮地茶中岩白菜素,由于七神喉痹通颗粒中干扰成分较多,最后选择以 Kromasil C₁₈ (200 mm×5.0 mm, 5 μ m) 色谱柱,乙腈-水 (8:92) 为流动相。

References:

- [1] Zheng L M, Qi X W, Xing M Y. Experimental study on the quality standard and formulation screening of Bergenin Tablets [J]. *J China Pharm* (中国药房), 2002, 13(7): 398-399.
- [2] Yuan A Z. Determination of bergenin in Xifeinin Oral Solution by TLCs [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1994, 16(2): 16.
- [3] Pan Y, Wang T S, Ma G, et al. The assay of Bergenin Gandujing Granule by RP-HPLC [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol* (中药新药与临床药理), 1998, 9(3): 172-174.
- [4] Xiong Z Z. Determination of bergenin in Compound Bergenin Tablets by HPLC [J]. *Primary J Chin Mater Med* (基层中药杂志), 2002, 16(2): 11-13.
- [5] Sun H X, Ye Y P, Yang K. Studies on the chemical constituents in *Radix Astilbes Chinensis* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2002, 27 (10): 751-754.

HPLC-ELSD 测定参芪降糖颗粒中人参皂苷 Rg₁ 和 Re 的含量

王守箐

(临沂师范学院, 山东 临沂 276000)

参芪降糖颗粒是由人参(茎叶)、黄芪等 11 味中药制得的复方制剂,具有益气养阴,滋脾补肾功效,主治消渴症,临床用于Ⅱ型糖尿病。人参为方中君药,一般将其有效成分人参皂苷 Re、Rg₁ 作为制剂的质量指标。目前参芪降糖颗粒定量部分为薄层扫描法测定人参皂苷 Re 的含量^[1]。本实验在参考文献^[2,3]的基础上,采用 HPLC-ELSD 法同时测定人参皂苷 Re 和 Rg₁ 的含量。结果表明,该法线性关系、回收率良好,重现性优于薄层扫描法,可用于该品种的质量控制。

1 仪器与试剂

Agilent1100 Series (美国 Agilent 公司), ELSD-2000 (Alltech 公司);人参皂苷 Re、Rg₁ 对照品(中国药品生物制品检定所);参芪降糖颗粒(鲁南制药股份有限公司);阴性样品(自制);乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱:Kromasil C₁₈ 柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μ m;天津特纳公司);流动相:乙腈-水 (22:78, 甲酸调 pH 至 2.2);体积流量:1.0 mL/min;柱温:室温;进样量:20 μ L。ELSD 参数:漂移管温度 110 $^{\circ}$ C;空气流量 3.0 L/min。