

高效液相色谱-蒸发光散射测定积雪苷霜软膏中 羟基积雪草苷和积雪草苷

张锐, 彭杨锐

(江西省药物研究所, 江西南昌 330029)

积雪草为伞形科积雪草 *Centella asiatica* (L.) Urban 的全草, 含有积雪草苷、羟基积雪草苷等多种三萜类化合物, 具有清热利湿、解毒消肿之功效。积雪苷霜软膏其主药为积雪草总苷, 具有促进创面愈合的作用。现行标准中仅有理化及薄层鉴别, 没有建立定量测定的方法。文献报道采用液相色谱-紫外检测法^[1]、毛细管区带电泳技术^[2]和柱前衍生技术-紫外检测法^[3]分析羟基积雪草苷和积雪草苷。蒸发光散射检测器 (evaporative light scattering detector, ELSD) 作为新一代的通用型检测器, 具有灵敏度高、不受溶剂紫外吸收的影响等优点。因此本研究采用 HPLC-ELSD 法测定了积雪苷霜软膏中羟基积雪草苷和积雪草苷, 建立了积雪苷霜软膏的定量测定方法。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-10AT 高压泵, Alltech ELSD

500 蒸发光散射检测器, 色谱工作软件为 Sepu 3000, Mellter M3 型百万分之一电子天平, Mellter AE 100 型万分之一电子天平。

羟基积雪草苷对照品和积雪草苷对照品 (自制, 按面积归一化法测定其质量分数大于 98%); 甲醇为色谱纯, 水为自制高纯水, 其他试剂均为分析纯; 积雪苷霜软膏 (上海现代浦东药厂有限公司)、阴性样品 (缺积雪草总苷的软膏基质) (自制)。

2 方法与结果

2.1 HPLC-ELSD 分析条件: 色谱柱为 Kromasil 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水 (65 : 35), 体积流量为 1 mL/min, ELSD 检测器漂移管温度为 87 °C, 气体体积流量为 2.2 SLPM。在此条件下, 样品中的羟基积雪草苷和积雪草苷可达到良好的分离, 色谱图见图 1。

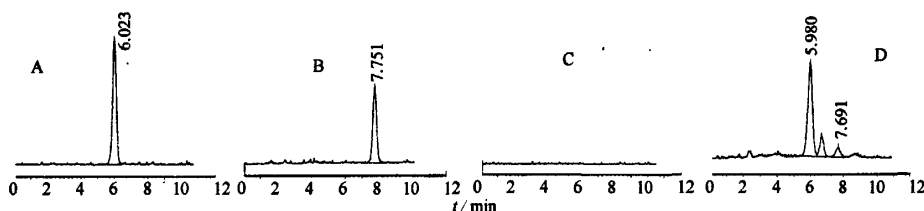


图1 羟基积雪草苷对照品(A)、积雪草苷对照品(B)、阴性样品(C)和积雪苷霜软膏供试品(D)的 HPLC 图谱

Fig.1 HPLC Chromatograms of hydroxy asiaticoside reference substances (A), asiaticoside reference substances (B), negative sample (C), and Jixuegan Shuang Cream (D)

2.2 对照品溶液的制备: 分别精密称取羟基积雪草苷对照品 1.335 mg 和积雪草苷对照品 1.082 mg 置 1 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 供试品溶液的制备: 取积雪苷霜软膏 0.1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 10 mL, 密塞, 称定质量, 置水浴中加热, 小心振摇使溶解, 冷却至室温, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.4 阴性供试品溶液的制备: 取阴性样品 0.1 g, 按

供试品溶液的制备方法同法制备。

2.5 标准曲线的制备: 分别精密量取羟基积雪草苷和积雪草苷对照品溶液 1.0、2.5、5.0、7.5、10.0、15.0 μL 注入液相色谱仪中, 记录峰面积。以进样量对数值为横坐标, 峰面积的对数值为纵坐标, 进行线性回归分析, 得羟基积雪草苷的回归方程为 $Y = 0.9718X + 5.228$, $r = 0.9997$; 积雪草苷的回归方程为 $Y = 0.9817X + 5.221$, $r = 0.9999$ 。表明羟基积雪草苷进样量在 1.335~20.03 μg 线性关系良好。积雪草苷进样量在 1.082~16.23 μg 线性关系良好。

收稿日期: 2006-06-01

作者简介: 张锐 (1976—), 男, 江西进贤人, 助理研究员, 硕士, 研究方向为中药化学成分及质量评价。

Tel: (0791) 8102554 E-mail: work037@sohu.com

2.6 精密度试验:取积雪甘霜软膏供试品溶液 10 μ L,连续进样 6 次,测定各峰面积,计算得羟基积雪草苷和积雪草苷的 RSD 分别为 1.1% 和 1.7%。

2.7 稳定性试验:取积雪甘霜软膏供试品溶液,分别于 0、1、2、4、8、12 h 进样,测定峰面积,计算 RSD,结果羟基积雪草苷和积雪草苷的 RSD 分别为 0.77% 和 1.3%。结果表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.8 重现性试验:取同一样品,精密称取 6 份,制备供试品溶液,进样测定,计算得羟基积雪草苷和积雪草苷平均质量分数分别为 14.28、4.312 mg/g, RSD 分别为 2.4% 和 2.6%。

2.9 回收率试验:取积雪甘霜软膏样品(批号 031001)约 0.05 g,共 6 份,精密称定,加入 10 mL 混合对照品溶液(含羟基积雪草苷和积雪草苷分别为 0.792、0.204 mg),制备供试品溶液,进样测定,计算得羟基积雪草苷和积雪草苷的平均回收率分别为 98.25% 和 98.91%, RSD 分别为 2.4% 和 2.0%。

2.10 样品测定:对 3 批样品每批取样 3 个,制备供试品溶液,进行测定,采用外标二点法计算。结果见表 1。

表 1 积雪甘霜软膏中羟基积雪草苷和积雪草苷的测定结果($n=3$)

Table 1 Determination of hydroxy asiaticoside and asiaticoside in Jixuegan Shuang Cream ($n=3$)

批号	羟基积雪草苷/(mg $\cdot$ g $^{-1}$)	积雪草苷/(mg $\cdot$ g $^{-1}$)
051201	9.564	9.026
051202	11.24	10.18
051203	10.63	10.04

3 讨论

本实验选择蒸发光散射检测器作为检测手段对羟基积雪草苷和积雪草苷进行分析,可以克服羟基积雪草苷和积雪草苷在紫外末端检测时样品溶剂带来的溶剂峰的干扰,提高检测的专属性。由于积雪草总苷中含有的强保留成分,持续进样后基线会发生波动,干扰测定,因此如使用紫外检测法必须采用梯度洗脱^[1],以清除杂质干扰。采用本法可克服以上不足,缩短分析时间,简化分析操作。

蒸发光散射检测器受温度尤其是气体体积流量等参数的影响较大,色谱条件优选过程中,根据流动相的种类和比例,通过观察在不同漂移管温度和不同载气流速时色谱峰的信号强度,再结合基线的情况,最终确定本实验中蒸发光散射检测器的参数。在样品测定过程中,只要严格控制气体体积流量和保证气体的纯净度,每次采用外标两点法进行标准曲线的校正,其测定结果可以达到很好的重现。

References

- [1] Zeng J G, Song Y F, Xu X. Determination of the triterpenes constituents in *Centella asiatica* L. by HPLC [J]. *Prim J Chin Mater Med* (基层中药杂志), 2000, 14 (6): 7-8.
- [2] Gu L, Huang S, Lou Z X, et al. Determination of asiaticoside in formula particles of *Centella asiatica* by capillary zone electrophoresis [J]. *Acad J Sec Mil Med Univ* (第二军医大学学报). 2004, 25 (7): 796-797.
- [3] Xiao J, Che Z T, Bi K S. Pre-column derivatation HPLC method for the determination of asiaticoside in *Centella asiatica* and Sanjinpian [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2000, 35 (8): 605-608.

HPLC 法测定温肾咳喘片中欧前胡素、蛇床子素、和厚朴酚、厚朴酚和甘草酸

于叶玲, 崔久峰, 唐 星

(沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

温肾咳喘片由蛇床子、厚朴和甘草组成,具有解痉、平喘、止咳祛痰之功效,主治咳嗽痰多、痰湿内阻、肺气壅滞、胸闷咳嗽等症。蛇床子素和欧前胡素是蛇床子中香豆素类成分的代表性成分,和厚朴酚、厚朴酚为厚朴中主要有效成分,甘草酸为甘草中的指标成分。本实验建立了 HPLC 法同时测定温肾咳喘片中主要药效成分欧前胡素、蛇床子素、和厚朴

酚、厚朴酚和甘草酸的方法。

1 仪器与试剂

Hitachi D-7000 高效液相色谱仪, D-7000 HSM 色谱工作站。欧前胡素对照品自制,经 HPLC 检查质量分数达 98% 以上,蛇床子素(批号 0737-200108)、和厚朴酚(批号 0730-9204)、厚朴酚(批号 0729-200006)对照品由中国药品生物制品检定所提

收稿日期:2006-03-05

作者简介:于叶玲(1976—),女,江苏泗阳人,在读药剂学博士。

Tel: (024)23986343 Fax: (024)23911736