

图 4 升麻素苷对照品 (A)、辛夷鼻炎丸(B)和空白样品 (C)的 HPLC 图

Fig 4 HPLC Chromatograms of prim2Qglucosylcimifygin reference substance (A), Xinyi Biyan Pill (B), and negative sample (C)

甲醇制成含升麻素苷 51.02、101.04、251.10、501.20、751.30、1001.40 Lg/ mL 的溶液, 分别进样 10 LL, 测定。以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标进行回归, 得回归方程 $Y = 1.552198703 X + 21.65300$, $r = 0.99986$, 结果表明升麻素苷在 501.02~ 10041.0 Lg 与峰面积呈良好的线性关系。

21.41.6 稳定性试验: 取同一供试品溶液 (批号 H00035) 于 0、015、1、115、2、215、315、24 h 进样, 按升麻素苷的峰面积计算, RSD 为 0173%, 表明升麻素苷在 24 h 内基本稳定。

21.41.7 重现性试验: 取批号 H00035 样品 6 份, 制备供试品溶液, 按上述色谱条件测定, 根据峰面积计算升麻素苷质量分数为 11.21 mg/g, RSD 为 11.17%。

21.41.8 加样回收率试验: 取辛夷鼻炎丸 (批号 H00035, 含升麻素苷 11.21 mg/g) 约 1 g, 精密称定, 分 3 组, 分别精密加入 01.2368 mg/mL 升麻素苷对照品溶液 41.5、51.0、51.5 mL, 制备供试品溶液, 测定, 计算得平均回收率为 1011.4%, RSD 为 11.03% (n= 9)。

21.41.9 样品的测定: 取 10 批辛夷鼻炎丸, 制备供试

品溶液。分别精密吸取升麻素苷对照品溶液及供试品溶液各 10 LL, 进行 HPLC 分析, 测定结果见表 1。

表 1 辛夷鼻炎丸中升麻素苷的测定结果 (n= 2)
Table 1 Determination of prim2Qglucosylcimifygin in Xinyi Biyan Pills (n= 2)

批号	升麻素苷/(mg# g ⁻¹)	批号	升麻素苷/(mg# g ⁻¹)
F00095	01.78	G00203	11.01
F00080	01.92	H00028	11.36
F00090	11.02	H00034	11.43
G00111	11.11	H00036	11.22
G00131	11.13	J00022	01.96

3 讨论

31.1 本品薄层色谱鉴别不受样品中其他药味的干扰, 专属性强, 操作简便, 可作为本品定性鉴别。

31.2 测定波长的选择: 取升麻素苷对照品溶液在 190~ 400 nm 波长扫描, 结果在 214、246、300 nm 处有最大吸收, 参考 5 中国药典 62005 年版一部防风项下的测定波长, 采用 254 nm 为检测波长。

31.3 提取条件的选择: 选用甲醇和丙酮作提取溶剂进行比较, 结果表明采用甲醇提取, 样品中升麻素苷的量明显比采用丙酮提取的高, 故选用甲醇作提取溶剂。在试验中采用超声 15、20、30、40 min 进行比较, 结果表明 20 min 以后, 延长超声时间对提取方法基本无影响, 为了提高效率, 故选择超声 20 min。

31.4 流动相的选择: 曾试用水 2 甲醇 (60 B 40)^[3]、01.04 mol/L 乙酸钠 2 甲醇 (70 B 30) 作为流动相, 结果发现采用流动相 水 2 甲醇 (60 B 40) 时, 样品色谱中主峰与杂峰很难达到基线分离, 以采用流动相 01.04 mol/L 乙酸钠 2 甲醇 (70 B 30) 时样品色谱峰分离好, 故采用 01.04 mol/L 乙酸钠 2 甲醇 (70 B 30) 作为流动相。

参考文献:

[1] 尹靖先, 邓晓鸿, 车晓彦, 等 1 苍耳子的薄层层析鉴别研究 [J] 华西药学杂志, 2005, 20(1): 67269
[2] 中国药典 [S] 1 一部 1 2005
[3] 丘文珍 1 HPLC 法测定辛夷鼻炎丸中升麻素苷和 2Q 甲基维斯阿米醇苷的含量 [J] 中草药, 2003, 34(5): 4222424

HPLC-ELSD 法测定补血颗粒中黄芪甲苷

朱虹云¹, 徐文峥^{*}, 刘帅英²

(11 丽水市中心医院, 浙江 丽水 323000; 21 丽水市食品药品检验所, 浙江 丽水 323000)

摘要: 目的 建立补血颗粒中黄芪甲苷的测定方法。方法 应用超声提取和高效液相色谱-蒸发光散射检测器 (HPLC-ELSD) 检测, 采用 Hypersil ODS 色谱柱 (250 mm@41.6 mm, 5 Lm); 柱温 30 e; 流动相: 乙腈 2 水 (35 B 65);

* 收稿日期: 2009-01-209

作者简介: 朱虹云 (1961), 女, 浙江丽水人, 主管药师, 研究方向为医院药学。

* 通讯作者 徐文峥 Tel: (0578)2681481 E2mail: lsxwz67@yahoo.com.cn

体积流量: 1.0 mL/min; 蒸发光散射检测器检测参数: 漂移管温度 100 ℃, 氮气流量 2.7 L/min。结果 黄芪甲苷在 2.0~12.2 Lg 时, 其线性关系良好($r=0.9994$); 平均加样回收率为 96.01% (RSD 为 1.34%)。结论 该方法快速简便、精密度好、灵敏度高, 可用于补血胶囊中黄芪甲苷的测定。

关键词: 补血颗粒; 黄芪甲苷; 高效液相色谱-蒸发光散射检测器 (HPLC-ELSD)

中图分类号: R284.02 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2009)08-1247-03

补血颗粒是一种根据中西医结合研制的补血补气类中成药。其中黄芪为方中主药, 其活性成分有黄芪多糖和黄芪甲苷。黄芪甲苷的测定有薄层扫描法、高效液相色谱法等^[1-3]。由于黄芪甲苷在紫外区仅有末端吸收并且十分不稳定, 因此, 本实验采用高效液相色谱-蒸发光散射检测器 (HPLC-ELSD) 法测定该制剂中黄芪甲苷, 为补血颗粒质量标准的制定提供参考。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪 (美国安捷伦公司), Agilent 1100 色谱工作站; Alltech 22000ES 型蒸发光散射检测器 (美国奥泰科技公司)。

补血颗粒 (自制), 黄芪甲苷对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 07812200607); 乙腈、甲醇为色谱纯, 纯净水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Hypersil ODS 色谱柱 (250 mm @ 4.6 mm, 5 μm); 柱温 30 ℃; 流动相: 乙腈:水 (35:65); 体积流量: 1.0 mL/min; 蒸发光散射检测器检测参数: 漂移管温度 100 ℃, 氮气流量 2.7 L/min。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取黄芪甲苷对照品

101.39 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并加至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 供试品溶液的制备: 取补血颗粒样品 10 袋, 精密称定, 研细, 精密称取细粉 25 g, 加 2% KOH 甲醇 80 mL, 冷浸过夜, 超声提取 40 min, 提取液浓缩至干, 残渣加水 10 mL, 微热使溶解, 用水饱和的正丁醇振摇提取 5 次, 每次 40 mL。合并正丁醇液, 用氨试液充分洗涤 3 次, 每次 40 mL, 弃去氨液, 正丁醇液蒸干, 残渣加水 5 mL 使溶解, 放冷, 通过 D101 型大孔树脂 (内径 1.5 cm, 长 12 cm), 以水 30 mL 洗脱, 弃去水液, 再用 40% 乙醇 50 mL 洗脱, 弃去洗脱液, 继用 70% 乙醇 60 mL 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 用甲醇溶解并转移至 50 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。同法制备缺黄芪药材的阴性供试品溶液。

2.4 系统适用性试验及阴性对照试验: 分别取黄芪甲苷对照品溶液、补血颗粒供试品溶液和缺黄芪的阴性供试品溶液各 10 μL 注入色谱仪中, 记录色谱图, 见图 1。可见对照品中黄芪甲苷峰峰形对称, 柱效良好, 而阴性供试品在黄芪甲苷峰相应的保留时间处无干扰。

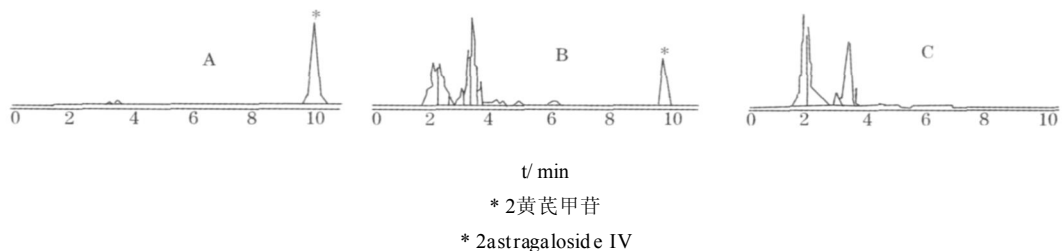


图 1 黄芪甲苷对照品 (A)、补血颗粒 (B) 和阴性样品 (C) 的 HPLC 图谱

Fig 1 HPLC Chromatograms of astragaloside IV reference substance (A), Buxue Granula (B), and negative sample (C)

2.5 标准曲线的制备: 精密称取黄芪甲苷对照品 501.0554 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇稀释并加至刻度。分别精密量取 2.4、6.8、10 mL 置 10 mL 量瓶中, 甲醇稀释至刻度。精密量取溶液各 10 μL 注入色谱仪, 测定峰面积值。以黄芪甲苷峰面积积分值的自然对数为纵坐标, 进样质量的自然对数为横坐标, 得回归方程为: $Y=8381.95X-11701.6$, $r=0.9994$ 。结果表明, 黄芪甲苷在 2.0~12.2 Lg 与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.6 精密度试验: 精密吸取供试品溶液 (批号

20080317), 连续进样 5 次, 每次进样 10 μL, 测定峰面积, 计算黄芪甲苷峰面积积分值的 RSD 为 0.53%。

2.7 稳定性试验: 取同一供试品溶液 (批号 20080317), 分别在 0、4、6、24、48 h 进样 10 μL, 记录色谱图, 计算得黄芪甲苷峰面积值的 RSD 为 0.99%, 表明溶液中黄芪甲苷在 48 h 内稳定, 可以满足实验要求。

2.8 重现性试验: 取批号 20080317 样品 5 份, 制备供试品溶液, 依法操作, 计算黄芪甲苷的质量分数, 结果其 RSD 为 0.67%。

21 9 回收率试验: 采用加样回收率方法。精密称取批号 20080317 样品细粉适量, 分别加入黄芪甲苷对照品 01 420 1、01 504 0、01 588 0 mg, 制备供试品溶液, 进样, 依法测定, 计算回收率。结果表明, 本方法的平均回收率为 96.10%, RSD 为 11.34% (n= 9)。

21 10 样品测定: 取 3 个不同批号的补血颗粒样品, 每批 6 份, 依法测定, 用回归方程计算, 得批号为 20070911、20080119、20080317 补血颗粒中黄芪甲苷的质量分数分别为 111.62、111.86、121.07 mg/ 袋。

3 讨论

本品为复方中药颗粒剂, 许多成分干扰黄芪甲苷的测定。根据实践工作发现, 薄层色谱法对薄层条件要求比较苛刻, 重现性不理想; 同时, 黄芪甲苷无特征紫外吸收, 在紫外 203 nm 处有末端吸收, 采用 HPLC-UV 检测时, 受流动相影响大, 基线不理

想, 检测灵敏度较低。本次研究中, 采用的蒸发光散射检测器为通用型质量检测器, 检测时流动相在检测器内挥发成气体, 样品组分形成气溶胶, 进入检测器产生响应, 从而获得理想的基线和检测灵敏度, 克服了紫外末端检测的不足。

试验中曾对黄芪甲苷的提取溶剂进行考察, 表明在 2% KOH 甲醇中略溶。在供试品溶液的制备中, 采用超声 10、20、30、40、60 min 溶解, 结果显示超声 40 min 能使黄芪甲苷完全溶出, 其他色谱条件的优化还有待进一步的探索性试验工作。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]1 一部1 2005
- [2] 吴玉强, 罗 轶1 HPLC-ELSD 法测定复方扶芳藤合剂中黄芪甲苷[J]1 中草药, 2006, 37(9): 1352-1354
- [3] 梁瑞雪, 张新军, 贾元印, 等1 薄层扫描法测定尘肺清颗粒中黄芪甲苷的含量[J]1 时珍国医国药, 2006, 9(17): 1682-1690

苁黄补肾胶囊质量标准的研究

侯 峰, 刘 芳, 莫启武*

(广州美晨药业有限公司, 广东 广州 510075)

摘要: 目的 建立苁黄补肾胶囊的质量标准。方法 采用 TLC 法鉴别处方中的肉苁蓉、熟地黄、菟丝子、五味子; 用 HPLC 法测定肉苁蓉中的松果菊苷。其中 HPLC 法采用 Kromasil C₁₈ 柱(250 mm@4.6 mm, 5 Lm); 柱温: 30℃; 流动相为甲醇-乙腈-2% 醋酸溶液(13B:10B:77); 体积流量: 1 mL/min; 检测波长为 334 nm。结果 TLC 鉴别色谱特征斑点明显; 松果菊苷在 0.48~11.92 Lg 存在良好的线性关系, 平均回收率为 99.1%, RSD 为 11.52%。结论 所建立的 TLC 和 HPLC 法专属性强, 重复性好, 可用于苁黄补肾胶囊的质量控制。

关键词: 苁黄补肾胶囊; 肉苁蓉; 熟地黄; 菟丝子; 五味子; 松果菊苷; 薄层色谱; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2009)08-1249-04

苁黄补肾胶囊由肉苁蓉、熟地黄、菟丝子、五味子(酒蒸)制成, 丸剂标准收载于 5 国家药品监督管理局国家中成药标准汇编 6 内科肾系分册, 具有滋补肾阴、强筋壮骨的功效。为了提高该药质量的可控性和检验方法的专属性, 本研究建立了熟地黄、菟丝子、五味子的薄层色谱鉴别方法, 改变了肉苁蓉鉴别供试品溶液的制备方法。通过试验, 发现检测本品的毛蕊花糖苷存在比较大的干扰, 所以改为测定肉苁蓉另一活性成分松果菊苷, 并建立了 HPLC 检测方法。

1 仪器和材料

紫外点样仪(上海安亭电子仪器厂); SPD)

10Avp 紫外检测仪(日本岛津公司); P4000 四元泵(美国热电公司); AT-130 色谱柱恒温箱(天津市恒奥科技发展有限公司); HN1006 超声清洗机(华南超声设备厂); HM202 电子分析天平(日本 AND 公司); 4K15C 高速冷冻离心机(德国 Sigma 公司)。

硅胶 G(青岛海洋化工有限公司); 甜菜碱(批号 8942200202)、2-羟甲基糠醛(批号 1116262200402)、五味子乙素(批号 7652200104)、山柰酚(批号 08612200002)、松果菊苷(批号 1116702200502) 对照品由中国药品生物制品检定所提供; 苁黄补肾胶囊(450 mg/粒, 批号 070701、070702、070703) 及缺肉苁蓉、熟地黄、菟丝子、五味子阴性样品为广州美晨药业有

* 收稿日期: 200810225

作者简介: 侯 峰(1976), 男, 湖北安陆人, 工程师, 毕业于西北大学, 从事中成药的研发工作。

Tel: (020)37662297 E-mail: smallhome@163.com