

HPLC-ELSD 测定前列舒乐颗粒中的黄芪甲苷

张彤^{1*}, 黄顺旺²

(1. 中共安徽省委机关医院药剂科, 合肥 230001; 2. 安徽省药物研究所, 合肥 230022)

[摘要] 目的: 建立 HPLC-ELSD 法测定前列舒乐颗粒中黄芪甲苷的含量。方法: 采用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂 Hypersil ODS(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)、Kromasil 100-5C₁₈, 以乙腈-水(35:65)为流动相, 流速为 0.9 mL · min⁻¹, 蒸发光散射检测器: 漂移管温度 100 °C, 气体流量 2.8 L · min⁻¹, 放大系数 2, 撞击器: 关。结果: 黄芪甲苷的线性范围 1.048 4 ~ 10.484 μg (r = 0.999 5), 平均回收率 (n = 6) 98.30% (RSD 1.13%)。结论: 本方法准确、快速、方便。

[关键词] 高效液相色谱-蒸发光散射检测器法; 前列舒乐颗粒; 黄芪甲苷

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2011)07-0082-02

“前列舒乐颗粒”^[1]是在贵州苗族验方的基础上, 以中医理论为指导加以筛选研制而成的, 处方有淫羊藿、黄芪、蒲黄、车前草、川牛膝等 5 味药材组成, 本方主用于肾脾两虚、气滞血瘀型慢性前列腺炎, 前列腺增生症。收载于《卫生部药品标准·中药成方制剂》第 12 册, 是目前国内治疗前列腺疾病的首选中成药之一。

原质量标准中未有含量测定指标, 目前文献报道都只是对本品中淫羊藿的有效成分淫羊藿苷 (C₃₃H₄₀O₁₅) 进行含量测定研究, 为了更好的控制本品质量, 我们参照有关文献[2], 采用高效液相色谱-蒸发光散射检测器法, 对本品中黄芪的有效成分黄芪甲苷 (C₄₁H₆₈O₁₄) 进行含量测定。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(日本岛津), 包括紫外检测器 SPD-10Avp; 溶剂输送泵 LC-10ATvp; N-2000 双通道色谱工作站; 6010 紫外-可见分光光度计(安捷伦科技上海有限公司); Alltech ELSD2000 蒸发光散射检测器; XWK-III 无油空气泵(天津分析仪器厂); AS2060B 超声波清洗机(天津奥特赛恩斯仪器有限公司); AG135 双量程电子天平、AB135-S 双量程电子天平(METTLER TOLEDO 公司); GX-DH-30X3-5 电热恒温干燥箱(上海跃进医疗器械厂)。

黄芪甲苷对照品(批号 0781-200813 含量测定用)购自中国药品生物制品检定所, 前列舒乐颗粒样品(批号 090301, 090302, 090303, 规格 4 g/袋)为贵州

东伟药业有限公司生产, 缺味阴性样品为自制。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂 Hypersil ODS(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)、Kromasil 100-5C₁₈, 流动相乙腈-水(35:65), 流速 0.9 mL · min⁻¹, 蒸发光散射检测器: 漂移管温度 100 °C, 气体流量 2.8 L · min⁻¹, 放大系数 2, 撞击器关。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取五氧化二磷减压干燥 24 h 的黄芪甲苷对照品 26.21 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为黄芪甲苷对照品贮备液(1.048 4 g · L⁻¹); 再精密量取 1, 3 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液 I 和 III。

2.3 供试品溶液的制备 取本品 3 袋, 研细, 取约 5 g, 精密称定, 加入甲醇超声(功率 250 W, 频率 33 kHz)提取 2 次, 每次 70 mL, 各 30 min, 滤过, 残渣加甲醇 20 mL 分次洗涤, 合并滤液和洗液, 蒸干, 残渣加水 20 mL 超声或微热使溶解, 用水饱和正丁醇振摇提取 5 次, 每次 30 mL, 合并正丁醇提取液, 用氨试液洗涤 3 次, 每次 40 mL, 弃去氨试液; 正丁醇液蒸干, 残渣用甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 阴性对照溶液的制备 按处方组分, 除去黄芪, 按制备工艺要求, 制成不含黄芪的样品, 按供试品制备项下的方法, 制成缺黄芪的阴性对照溶液。

2.5 系统适用性试验 吸取对照品(0.209 7 g · L⁻¹)、供试品溶液和阴性对照溶液各 20 μL, 注入液相色谱仪, 在此条件下黄芪甲苷分离效果好, 峰形较好; 供试品溶液色谱图中黄芪甲苷保留时间与对

[收稿日期] 2010-09-28

[通讯作者] * 张彤, 副主任医师, 从事医院临床药学研究, Tel: 0551-2606416, E-mail: zt80205@sina.com

照品一致,而阴性对照无干扰;黄芪甲苷对照品溶液色谱图中,理论塔板数为16 545,因此将理论塔板数定为不少于4 500。供试品溶液色谱图中,测得黄芪甲苷 $R_1 = 7.972$, $R_2 = 2.943$ (应大于1.5),符合《中国药典》2005年版一部规定。

2.6 线性关系考察 精密量取黄芪甲苷对照品贮备液($1.0484 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)1,2,3,4,5 mL,分别置10 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液I,II,III,IV,V,精密量取对照品溶液I 1 mL置2 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液VI。分别精密吸取上述对照品溶液各20 μL ,注入液相色谱仪中,记录色谱图,量取峰面积。以黄芪甲苷的峰面积的自然对数(Y)为纵坐标,以黄芪甲苷的进样量的自然对数(X)为横坐标,进行线性回归,得回归方程 $Y = 1.93644 X + 11.18708$ ($r = 0.9995$)。结果表明黄芪甲苷在1.0484~10.484 μg 进样量的自然对数与峰面积的自然对数呈良好的线性关系。

2.7 精密度试验 精密吸取上述对照品溶液II 20 μL ,注入液相色谱仪,记录色谱图,连续测定5次,测得峰面积,经计算其RSD 1.68%。

2.8 稳定性试验 取同一供试品溶液(批号090301),分别于0,2,4,8,12,24 h精密吸取20 μL ,注入液相色谱仪,记录色谱图,经计算其RSD 1.61%,结果表明供试品溶液至少在24 h内是稳定的。

2.9 重复性试验 精密称取同一批号样品(090301)共6份,按2.3项下要求制备供试品溶液,分别精密吸取对照品溶液I,III与供试品溶液各20 μL ,按上述色谱条件测定,以外标法用标准曲线对数方程计算,结果黄芪甲苷的平均含量为0.2885 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD 1.74%,说明本法测定重复性好。

2.10 加样回收率试验 精密称取已知含量(0.2885 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)的同一批号的样品(090301)适量(约2.5 g),共6份,分别置具塞锥形瓶中,精密加入黄芪甲苷对照品溶液($0.6290 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)1 mL,按2.3项下要求制备供试液,分别精密吸取对照品溶液I、III与供试品溶液各20 μL ,注入液相色谱仪,测定,以外标法用标准曲线对数方程计算含量,结果黄芪甲苷平均回收率98.30%,RSD 1.13%,说明本法回收率好,测定黄芪甲苷含量准确度高。见表1。

2.11 样品测定 经对市售3批次药品(批号090301,090302,090303)进行含量测定,测定结果分

表1 黄芪甲苷含量测定加样回收率试验($n = 6$)

No.	取样量	样品中量	加入量	实测值	回收率	平均值 RSD	
	/g	/mg	/mg	/mg	/%	/%	/%
1	2.244 7	0.647 6	0.629 0	1.260 5	97.44	98.30	1.13
2	2.375 4	0.685 3	0.629 0	1.303 2	98.23		
3	2.680 2	0.775 2	0.629 0	1.396 8	99.14		
4	2.749 5	0.793 2	0.629 0	1.418 1	99.34		
5	2.113 9	0.609 9	0.629 0	1.217 3	96.57		
6	2.495 7	0.720 0	0.629 0	1.343 2	99.08		

别为0.2885,0.2983,0.2716 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ($n = 3$),RSD分别为1.12%,1.31%,0.98%。

3 讨论

为了考察提取方法及提取次数对含量测定结果的影响,根据黄芪甲苷易溶于甲醇的特性,试验中分别采用甲醇适量索氏回流提取、超声提取方法(超声提取2次,每次加甲醇70 mL,每次30 min)和水饱和的正丁醇不同提取次数进行比较。

3.1 提取方法选择 试验中分别采用甲醇适量索氏回流提取、超声提取方法(超声提取2次,每次加甲醇70 mL,每次30 min),结果样品加甲醇索氏回流提取和超声提取,测得的黄芪甲苷含量分别为0.2848,0.2964 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,基本一致,但超声提取法比较方便,故选择超声提取方法。

3.2 超声提取次数的选择 供试品溶液的制备在其他条件相同的情况下,超声提取次数分别为1,2,3次,测定结果分别为0.2324,0.2782,0.2755 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,表明采用样品加甲醇超声提取2次,即可将黄芪甲苷提取完全,故选择超声提取2次。

3.3 正丁醇提取次数的选择 供试品溶液的制备在其他条件相同的情况下,用水饱和正丁醇振摇提取3,4,5,6次,测定结果分别为0.2277,0.2525,0.2873,0.2864 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,表明用正丁醇提取3,4次与提取5,6次黄芪甲苷含量有较大的差异,但用正丁醇提取5次与提取6次黄芪甲苷的含量无明显变化。故选择用正丁醇提取5次。

采用HPLC-ELSD法测定前列舒乐颗粒中黄芪甲苷的含量,方法准确、快速、方便、重复性好,对进一步完善该品种的质量标准提供参考依据。

[参考文献]

- [1] 卫生部药品标准·中药成方制剂.第12册[S]. WS₃-B-2394-97.1997:142.
- [2] 中国药典.一部[S]. 2005:212.

[责任编辑 蔡仲德]