

高效液相色谱蒸发光散射检测器测定复方石韦片中黄芪甲苷含量

李代晓^{1*}, 吕英超¹, 李云霞²

(1. 河北承德医学院中药所, 河北承德 067000; 2. 河北承德颈复康药业集团, 河北承德 067000)

[摘要] 目的: 建立高效液相色谱蒸发光散射检测器测定复方石韦片中黄芪甲苷含量的方法。方法: 采用 Agilent C₁₈ 色谱柱(4.6 mm ×150 mm, 5 μm), 以乙腈-水(35:65)为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹; ELSD 检测器漂移管温度 100℃, 载气流速 2.8 L·min⁻¹。结果: 黄芪甲苷进样量在 1.12~6.72 μg 呈良好线性关系($r=0.9999$), 平均加样回收率为 98.94% ($n=9$)。结论: 本法操作简便, 重复性好, 灵敏度高, 可有效控制复方石韦片中黄芪甲苷含量。

[关键词] 复方石韦片; 黄芪甲苷; 高效液相色谱-蒸发光散射检测器

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)10-0093-03

HPLC-ELSD Determination of Astragaloside in Fufangshiwei Tablets

LI Dai-xiao^{1*}, LV Ying-chao¹, LI Yun-xia²

(1. Chengde Medical College, Hebei Province Chengde 067000, China;

2. Chengde JingFukang Company, Hebei Province Chengde 067000, China)

[Abstract] **Objective:** To establish an HPLC-ELSD method for the determination of astragaloside in Fufang Shiwei tablets. **Method:** Agilent C₁₈ (4.6 mm ×150 mm, 5 μm) column was used. The mobile phase consisted of acetonitrile - water (35:65) and the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹; ELSD was used as the detector. **Results:** Astragaloside was linear in the range of 1.12-6.72 μg ($r = 0.9999$); The average recovery ($n=9$) was 98.94%. **Conclusion:** The method can be used for the quality control of Fufang Shiwei tablets.

[Key words] Fufangshiwei tablets; astragaloside; HPLC - ELSD

复方石韦片由石韦、黄芪、苦参、篇蓄组成, 收载在《国家食品药品监督管理局标准》(试行) YBZ20002005。该方具有增强免疫功能、利尿抗菌、清热通淋、保护肾功能及无耐药性等特点, 广泛应用于慢性肾小球肾炎、肾盂肾炎、膀胱炎、尿道炎等泌尿系统感染的疾病^[1-2]。复方石韦片现行质量标准, 采用薄层色谱扫描法测定苦参碱含量, 操作繁琐、误差大; 经检索, 已有用高效液相法检测复方石韦片中苦参碱和绿原酸含量的报道^[3-5], 因氧化苦参碱与苦参碱存在相互转化的现象, 只用苦参碱含量作为控

制质量的定量指标是不恰当的^[6]。为了提高复方石韦片的内在质量, 本文建立了高效液相色谱蒸发光散射检测器测定复方石韦片中黄芪甲苷含量的方法^[7-9], 现将实验结果报告如下。

1 仪器与试剂

Agilent HP1100 高效液相色谱仪; ELSD-2000ES 蒸发光散射检测器; XWK-3A 空气泵(天津市华生分析仪器厂); METTLER AE240 型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]。黄芪甲苷对照品, 中国药品生物制品检定所提供(批号 110781-200613); 不同批号复方石韦片(规格 0.4g/片)由河北承德颈复康药业集团提供。甲醇、正丁醇、氨水等均为分析纯, 乙腈为色谱纯, 水为超纯水。

[收稿日期] 20100201(002)

[通讯作者] * 李代晓, Tel: 13932471806; E-mail: lidaixiao2008

@ 126.com

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相乙腈-水 (35:65); 流速 1.0 mL · min⁻¹; ELSD 检测器参数飘移管温度 100 ; 气体流速为 2.8 L · min⁻¹。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取五氧化二磷减压干燥至恒重的黄芪甲苷对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.2 mg 的溶液, 即得。

2.2.2 供试品溶液 取本品 20 片, 研细, 取约 2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加甲醇 50 mL, 称重, 超声处理 (功率 250 W, 超声频率 40 Hz) 45 min, 放冷, 用甲醇补足减失的质量, 滤过, 取续滤液 25 mL, 水浴锅蒸干, 残渣加水 25 mL, 微热使溶解, 用水饱和的正丁醇振摇提取 4 次, 用量依次为 40, 30, 20, 20 mL, 合并正丁醇提取液, 用氨试液提取 2 次, 每次用量 30 mL, 弃去氨液, 蒸干正丁醇液, 残渣加甲醇微热约 40 , 分次溶解并转移置 10 mL 量瓶内, 冷至室温, 加甲醇至刻度, 摇匀, 微孔滤膜过滤, 即得。

2.2.3 阴性对照品溶液 取不含黄芪药材的处方其他药材, 按照相同工艺制得阴性对照样品, 再按上述供试品溶液制备方法, 制得阴性对照样品溶液。

2.3 色谱系统性试验 按 2.1 项下色谱条件, 将对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各进样 20 μL, 测定, 记录其色谱图, 结果见图 1。以黄芪甲苷记理论塔板数不低于 5 000。

2.4 线性关系考察 精密吸取 0.224 g · L 对照品溶液 5, 10, 15, 20, 25, 30 μL 进样, 测定, 以进样质量的常用对数值为横坐标, 峰面积的常用对数值为纵坐标进行线性回归, 线性范围 1.12 ~ 6.72 μg, 回归方程为 $Y = 1.538X + 7.4056$, $r = 0.9999$ 。

2.5 精密度试验 取供试品溶液, 连续进样 6 次, 测定峰面积, 黄芪甲苷峰面积平均值为 5 126.773, RSD 为 0.97%。表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 同一供试品溶液, 分别于 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 h 进样, 测定峰面积, 计算峰面积平均值为 5 169.098, RSD 为 0.36%, 表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.7 重复性试验 取同一批号 (080607) 样品粉末共 9 份, 1 ~ 3 每份 1.6 g, 4 ~ 6 每份 2.0 g, 7 ~ 9 每份 2.4 g, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 分别测定含量, 计算本批样品含量平均值为 0.734 mg · g⁻¹,

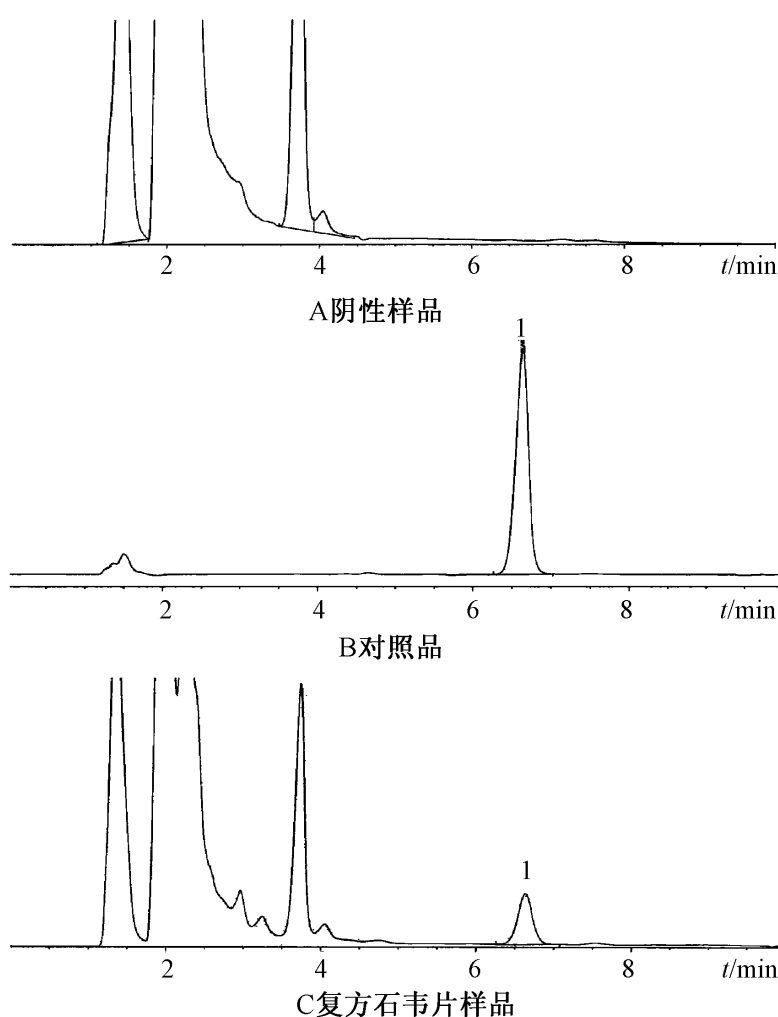


图 1 复方石韦片 HPLC - ELSD 图
1. 黄芪甲苷

RSD 为 0.72% ($n = 9$), 表明重复性良好。

2.8 加样回收率试验 取已知含量的复方石韦片 (080714) 粉末 1 g, 精密称定, 共取 9 份, 平均分为 3 组, 每组分别精密加入 0.331 g · L⁻¹ 对照品溶液, 1.00, 2.00, 3.00 mL, 照 2.2.2 项下供试品溶液制备方法制备供试液, 测定每份溶液黄芪甲苷含量, 计算回收率, 结果平均回收率为 98.94%, RSD 为 0.92% ($n = 9$)。见表 1。

表 1 复方石韦片加样回收率试验

No.	样品量 / g	供试品含量 / g	对照品加入量 / mg	实测值 / mg	回收率 / %	平均值 / %	RSD / %
1	1.000 2	0.615 1	0.331	0.940	98.16		
2	1.000 1	0.615 1	0.331	0.941	98.61		
3	1.000 7	0.615 4	0.331	0.938	97.46		
4	1.000 3	0.615 2	0.662	1.267	98.46		
5	1.000 4	0.615 2	0.662	1.275	99.67	98.94	0.92
6	1.000 5	0.615 3	0.662	1.268	98.60		
7	1.001 0	0.615 6	0.993	1.611	7100.31		
8	1.001 1	0.615 7	0.993	1.606	899.81		
9	1.001 0	0.615 6	0.993	1.602	199.34		

2.9 样品含量测定 6 个批号的复方石韦片分别取 3 份, 按 2.2.2 项下方法分别制备供试品溶液, 进样, 测定, 结果见表 2。

3 讨论

本实验分别比较用甲醇索氏提取, 甲醇回流提取, 甲醇超声提取方法, 结果索氏提取, 回流提取得到的成分比较复杂, 不利于分析, 且含量均偏低, 故选用超声提取。

表 2 复方石韦片样品含量测定

批号	含量 /mg · g ⁻¹	RSD/%
080716	0.64	1.6
080604	0.69	1.2
080704	0.68	0.9
080701	0.60	1.7
080608	0.66	2.1
080610	0.71	1.9

对提取时间 30, 45, 60 min 进行考察, 发现超声 45 min 和 60 min 时黄芪甲苷含量无显著性差异, 说明超声 45 min 时样品中黄芪甲苷基本提取完全。故以超声提取 45 min 为较合适。

本实验还进行了优化流动相系统实验, 分别比较了乙腈-水(30 70)、甲醇-水(79 21)、乙腈-水(35 65) 为流动相, 结果以乙腈-水(35 65) 作为流动相时所测成分黄芪甲苷峰形良好, 且与其他成分达到

(上接第 92 页)

乙酸乙酯萃取数次以达到去除干扰成分的目的, 由于操作步骤繁多, 导致方法准确度较差, 且实验周期较长。在对原方法进行复核后, 考察了回流提取、超声提取, 采用超声提取较方便, 并考察了不同提取溶剂(乙醇、不同浓度甲醇), 结果甲醇提取率最高且杂质最少。

3.2 方法耐用性考察 供试品溶液制备过程中, 考察了超声处理 15, 30, 45 min, 结果超声处理 15 min 提取基本完全。考察了 3 种不同商品规格的 C₁₈ 色谱柱, 结果差异不大; 考察了室温, 35, 40 不同的柱温条件, 结果显示柱温对测定结果的影响不大, 说明该方法的适应性良好。

3.3 小结 本实验建立的含量测定方法样品前处理方法简单, 分析条件便于控制, 样品分离度好, 因而具有较好的重复性和较高的精密度, 为中药咽速

基线分离。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2000.
- [2] 吴金英, 孙建宁. 复方石韦片主要药效学试验研究 [J]. 中成药, 2000, 22 (6) : 428.
- [3] 董海荣, 杨颖. 薄层扫描法测定复方石韦片中苦参碱的含量 [J]. 中草药, 1999, 29 (1) : 47.
- [4] 李云章. 山庄牌复方石韦片 [J]. 中草药, 1997, 28 (3) : 190.
- [5] 刘丽欣, 王岳. HPLC 法测定复方石韦片中绿原酸的含量 [J]. 现代中西医结合杂志 2008, 9 (26) : 4130.
- [6] 孙文基, 贾敏鸽. 苦参及其复方中苦参碱与氧化苦参碱的转化研究 [J]. 药物分析杂志, 2003, 23 (2) : 902.
- [7] 李生有. 双波长薄层扫描法测定益心康泰胶囊中黄芪甲苷含量 [J]. 中成药, 2006, 28 (12) : 1855.
- [8] 盛家荣. HPLC 测定十五味气血双补口服液中黄芪甲苷的含量 [J]. 中成药, 2006, 28 (11) : 1690.
- [9] 吴玉强, 罗轶. HPLC - ELSD 法测定复方扶芳藤合剂中黄芪甲苷 [J]. 中草药, 2006, 37 (9) : 3531.

[责任编辑 顾雪竹]

康的质量标准提高和质量控制提供了科学依据。

[参考文献]

- [1] 黄荣增. 咽速康气雾剂的药学及药效学研究 [D]. 湖北中医学院硕士论文, 2005: 35.
- [2] 国家药典委员会. 中国药典 [S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 48.
- [3] 郝美玲, 乌云娜. 2 种蒙成药中胆酸的薄层扫描含量测定 [J]. 中国中药杂志, 1996, 21 (9) : 546.
- [4] 石海琳, 唐继德, 周新建. 人工牛黄中胆酸测定方法的改进 [J]. 中成药, 1995, 17 (6) : 36.
- [5] 谭友文, 朱俊彦. HPLC-ELSD 测定牛黄蛇胆川贝液中胆酸的含量 [J]. 中外医疗, 2007 (23) : 1.
- [6] 王蔚. RP-HPLC 测定消痔灵片中胆酸的含量 [J]. 广东药学, 2005, 15 (2) : 24.

[责任编辑 顾雪竹]