

HPLC-ELSD 测定咽速康气雾剂中胆酸的含量

季艳艳^{1*}, 周林¹, 常新全², 陈波¹

(1. 中国药材公司, 北京 102600; 2. 华颐药业有限公司, 北京 102600)

[摘要] 目的: 建立咽速康气雾剂中胆酸的含量测定方法。方法: 利用 HPLC-ELSD 法, 采用 Cromasil C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相甲醇-0.1% 冰醋酸水溶液梯度洗脱; 漂移管温度 75 °C; 氮气流速 33 psi。结果: 胆酸对照品在 0.6542~16.355 μg 内, 进样量与峰面积间的对数值呈良好的线性关系, $r = 0.9998$, 平均回收率 100.27%, RSD 为 2.13%。结论: 本方法结果准确, 重复性好, 可作为该制剂的含量测定方法。

[关键词] 咽速康气雾剂; 胆酸; 反相高效液相色谱-蒸发光检测器法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)10-0091-03

Content Determination of Cholic Acid in Yansukang Aerosol by HPLC-ELSD

Ji Yan-yan^{*}, ZHOU Lin¹, GHANG Xin-quan, CHEN Bo¹

(1. China National Corp. of Traditional & Herbal Medicine, Beijing 102600, China;

2. Hua Yi Pharmacy Co., Ltd, Beijing 102600, China)

[Abstract] Objective: To establish the content determination method for cholic acid in Yansukang by HPLC-ELSD. **Method:** An HPLC method was applied with Kromasil-C₁₈ column (4.6 mm × 250mm, 5 μm) by a gradient elution using A (methanol) -B (0.1% glacial acetic acid solution) as the mobile phase. The drift tube temperature was set at 75 °C, and N₂ pressure was 33 psi. **Result:** The linear range of cholic acid was 0.6542-16.355 μg; The correlation coefficient (r) was 0.9998, and the average recovery was 100.27%, with RSD 2.13% ($n=6$). **Conclusion:** The method is accurate and reproducible, and can be used to determine the content of cholic acid in Yansukang.

[Key words] aerosol; Cholic acid; HPLC-ELSD

咽速康气雾剂由人工牛黄、麝香、珍珠、雄黄、蟾酥、冰片等组成, 方中人工牛黄为重要药味, 所含胆酸与制剂的药理作用密切相关。胆酸类成分传统的质量控制方法主要有薄层扫描法^[1-3]、紫外-可见分光光度法^[4]、高效液相色谱法 (HPLC-UV)^[5], 但前两者均存在样品前处理繁琐、准确度差、专属性差等缺点, 由于胆酸为不含生色团的甾体化合物, 紫外吸收很弱, 导致 HPLC-UV 法检测困难; 反相高效液相色谱-蒸发光检测器法 (HPLC-ELSD)^[6] 是近年来测定胆酸质量分数使用较多的方法, 该法对没有共轭

结构和生色团的物质及产生末端吸收的物质均能产生响应, 且灵敏度高, 分析结果准确。咽速康气雾剂原质量标准通过显色后采用薄层扫描方法测定胆酸质量分数, 已经不能适应该制剂质量控制的要求。本实验采用 HPLC-ELSD 法测定咽速康气雾剂中胆酸的含量, 样品制备方法简单, 结果准确, 能够有效控制制剂质量, 提高后的质量标准更适宜在实际工作中应用。

1 仪器与试剂

Waters 高效液相色谱仪 (配备 2424 型 ELSD 检测器)。胆酸对照品购自中国药品生物制品检定所 (批号 100078-200414, 含量测定用)。咽速康气雾剂及人工牛黄阴性样品由华颐药业有限公司提供, 甲醇为色谱纯, 水为 Millipore 制备的超纯水; 其他试剂

[收稿日期] 20100310(005)

[通讯作者] * 季艳艳, 中药学硕士, Tel: 010-61252980, E-mail:

jiyan2002@126.com

均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Kromasil-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm ×250 mm, 5 μm); 以甲醇为流动相 A, 0.1% 冰醋酸水溶液为流动相 B, 按表 1 进行梯度洗脱; 柱温 35 ; 流速 1 mL · min⁻¹; 蒸发光检测器条件漂移管温度 75 , 氮气压力 33 psi, 见图 1。

表 1 胆酸流动相洗脱条件

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0 ~20	76	24
20 ~25	76 95	24 5
25 ~40	95	5
40 ~60	95 76	5 24

2.2 对照品溶液的制备 精密称取胆酸对照品适量, 溶于甲醇制成每 1 mL 含胆酸 0.4 mg 的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备 取原药液适量, 搅拌 30 min, 精密量取 10 mL 置 25 mL 容量瓶中, 加入约 10 mL 甲醇, 超声(功率 150 W, 频率 25 KHz) 提取 15 min, 取出放至室温后, 甲醇定容至刻度, 摇匀, 0.45 μm 滤膜过滤, 取续滤液, 即得。

2.4 阴性溶液的制备 取不含人工牛黄的阴性制剂, 按 2.3 项制备阴性试液, 以上述色谱条件测定, 结果阴性试液在与胆酸对照品相同保留时间处无色谱峰出现, 阴性无干扰。

2.5 线性关系考察 精密吸取胆酸对照品溶液 1, 2, 5, 10, 15, 20, 25 μL 注入液相色谱仪, 记录峰面积, 以胆酸对照品进样量的对数值为横坐标, 峰面积的对数值为纵坐标, 计算回归方程为 $Y = 1.51X + 3.73$, $r = 0.9998$, 表明胆酸在 0.654 2 ~16.355 μg

呈良好的线性关系。

2.6 精密度试验 取同一供试品溶液, 进样 15 μL, 重复 6 次, 胆酸的平均含量为 0.58 g · L⁻¹, RSD 为 0.65% ($n=6$), 结果表明本实验精密度良好。

2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液, 分别于配制后 0, 4, 8, 12, 24, 48 h 进样 15 μL, 依法测定, 计算, 其相对标准偏差 RSD 为 0.75% ($n=6$), 表明供试品溶液在 48 h 内稳定。

2.8 重复性试验 精密量取供试品 6 份, 按供试品溶液的制备及测定项下方法平行试验, 测得咽速康气雾剂中胆酸的平均含量为 0.58 g · L⁻¹, RSD = 1.8% ($n=6$), 表明本方法重复性良好。

2.9 加样回收率 精密量取已知含量(0.583 5 g · L⁻¹) 的同批样品 6 份, 每份 5 mL, 精密加入胆酸对照品溶液 5.0 mL, 0.503 mg · mL⁻¹, 按“供试品溶液”的制备方法处理, 计算回收率。结果平均回收率为 100.27%, RSD 为 2.13% ($n=6$)。测定结果见表 2。

表 2 胆酸回收率试验

取样量 No.	胆酸含 量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收 率 /%	RSD /%
1	2.917 5	2.515	5.436 3	100.15		
2	2.917 5	2.515	5.427 5	99.80		
3	2.917 5	2.515	5.473 5	101.63	100.27	2.13
4	2.917 5	2.515	5.451 2	100.74		
5	2.917 5	2.515	5.344 8	96.51		
6	2.917 5	2.515	5.502 8	102.80		

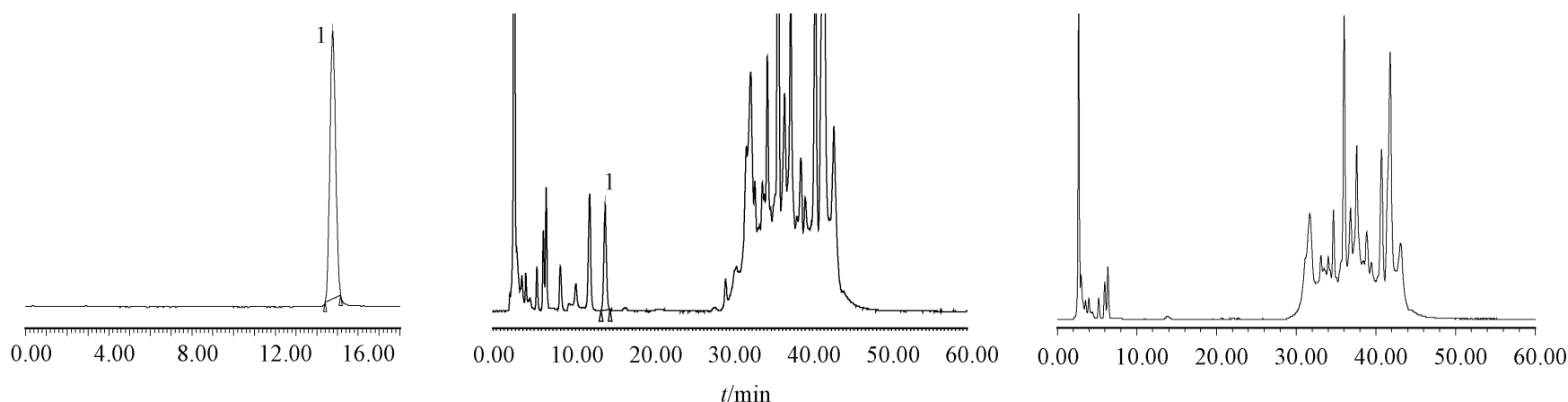


图 1 咽速康气雾剂中胆酸 HPLC 图谱

A. 胆酸对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 胆酸

2.10 样品测定 取 3 批供试品, 按 2.3 制备样品供试液, 按 2.1 色谱条件测定, 以外标两点法计算胆酸质量分数, 结果供试品中胆酸质量分数分别为 0.583 2, 0.582 1, 0.578 0 g · L⁻¹。

3 讨论

3.1 供试品制备方法考察 胆酸易溶于乙酸乙酯, 原标准将样品通过碱液处理后酸化, 使其游离后用 (下转第 95 页)

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