

HPLC-ELSD 法测定清咽胶囊中重楼皂苷 和重楼皂苷 的含量

毕晓黎^{*}, 胥爱丽, 罗文汇
(广东省中医研究所, 广州 510095)

[摘要] 目的: 采用高效液相色谱法-蒸发光散射检测器(HPLC-ELSD)测定清咽胶囊中重楼皂苷 和重楼皂苷 的含量。方法: 以乙腈-水(48:52)为流动相, Hypersil C₁₈柱(4.6 mm ×250 mm, 5 μm)为固定相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 漂移管温度 45℃, 载气流量 1.5 L·min⁻¹。结果: 重楼皂苷 的回收率 97.27%, RSD 为 1.22% (n=6); 重楼皂苷 的回收率 97.09%, RSD 1.40% (n=6)。结论: 该方法简便、快速、重复性好, 可用于清咽胶囊的质量控制。

[关键词] 清咽胶囊; 高效液相色谱-蒸发光散射检测器; 重楼皂苷 ; 重楼皂苷

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)04-0064-03

Determination of Chonglou saponin and Chonglou saponin in Qingyan capsule by HPLC-ELSD

BI Xiao-li^{*}, XU Ai-li, LUO Wen-hui

(Guangdong Institute of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510095, China)

[Abstract] **Objective:** To develop an HPLC-ELSD method for the content determination of Chonglou Saponin and Chonglou Saponin in Qingyan capsule. **Method:** The analysis was carried out on a Hypersil C₁₈ analytical column (4.6 mm ×250 mm, 5 μm) with the mobile phase consisting of acetonitrile-water(48:52). The detector drift tube temperature was set at 45℃ and the nitrogen flow rate was 1.5 L·min⁻¹. **Result:** The recoveries for Chonglou Saponin and Chonglou Saponin were 97.27% and 97.09% with RSD 1.22% and 1.40% (n=6), respectively. **Conclusion:** The developed method is simple, rapid, replicable, and can be used for the quality control of Qingyan capsule.

[Key words] Qingyan capsule; HPLC-ELSD; chonglou saponin ; chonglou saponin

清咽胶囊主要由重楼、连翘、牛蒡子等多味药物组成, 具有清热泻火、消肿利咽的作用。制剂中成分较复杂, 本文采用高效液相色谱法测定该制剂中重楼皂苷 和重楼皂苷 的含量, 探讨该制剂的质量控制方法。

1 仪器与试剂

Agilent 1200 高效液相色谱仪, 四元梯度泵, G2170AA 数据处理系统, Alltech3300 蒸发光散射检测器, METTLER-TOLEDO XS205DU 电子分析天平。

乙腈为色谱纯试剂(一级), 水为双蒸水, 其他

试剂均为分析纯。重楼皂苷 (中国药品生物制品检定所, 批号 111590-200402); 重楼皂苷 对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 111591-200402); 清咽胶囊及其空白制剂由广东省中医研究所自制, 批号 090501, 090502, 090503。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 Hypersil C₁₈柱(4.6 mm ×250 mm, 5 μm); 流动相乙腈-水(48:52); 流速 1.0 mL·min⁻¹; 柱温 30℃; 进样量 10 μL; 漂移管温度 45℃, 载气流量 1.5 L·min⁻¹, 撞击器模式开。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取重楼皂苷 和重楼皂苷 对照品适量, 分别加甲醇溶解, 制成每 1 mL 含重楼皂苷 0.42 mg 和重楼皂苷 0.28 mg 的溶液, 即得。

[收稿日期] 2009-08-21

[通讯作者] * 毕晓黎, Tel: (020) 83501292; E-mail: bxl1130@yahoo.com.cn

2.3 供试品溶液的制备 本品内容物研细, 取约 1 g 精密称定, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 密塞, 称定质量, 80 °C 水浴加热回流 1 h, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的质量, 滤过, 取续滤液 25 mL, 置蒸发皿中蒸干, 残渣加水 20 mL 溶解并移至分液漏斗中, 用水饱和的正丁醇提取 4 次, 每次 20 mL, 合并正丁醇液, 用氨试液、正丁醇饱和的水各洗涤 1 次, 每次 30 mL, 弃去洗涤液, 正丁醇液蒸干, 残渣加甲醇溶解, 转移至 5 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 线性范围的考查 分别精密吸取不同浓度重楼皂苷和重楼皂苷对照品溶液(每 1 mL 中含重楼皂苷分别为 0.126, 0.252, 0.378, 0.504, 0.630 mg; 每 1 mL 中含重楼皂苷分别为 0.084, 0.168, 0.252, 0.336, 0.42 mg) 各 10 μL, 按上述色谱条件测定峰面积, 并以峰面积的自然对数值(Y)对进样量的自然对数值(X)进行线性回归, 分别得到重楼皂苷回归方程 $Y=2.6722X+3.1825$, $r=0.9993$; 重楼皂苷回归方程 $Y=0.9416X+5.6155$, $r=0.9995$ 。表明重楼皂苷在 1.26 ~6.30 μg, 重楼皂苷在 0.84 ~4.20 μg 呈线性关系。

2.5 精密度试验 分别精密吸取重楼皂苷对照品溶液(0.42 mg·mL⁻¹)和重楼皂苷对照品溶液(0.28 mg·mL⁻¹) 10 μL 分别进样 6 次, 测得峰面积积分值 RSD 分别为 1.27% 和 1.53% (n=6)。

2.6 稳定性试验 精密吸取供试品溶液 10 μL 分别于 0, 1, 2, 4, 6, 8 h 进样, 分别测定重楼皂苷和重楼皂苷峰面积, 结果 RSD 分别为 1.78% 和 1.91% (n=6), 表明供试品在 8 h 内稳定。

2.7 重复性试验 取同一样品(批号: 090501) 6 份, 分别精密称定, 按上述供试品溶液制备方法和色谱条件测定, 计算重楼皂苷和重楼皂苷的含量, RSD 分别为 1.64% 和 1.33%。

2.8 加样回收率试验 精密称取已知含量的样品, 分别精密加入一定量的重楼皂苷和重楼皂苷对照品, 按供试品溶液制备方法和色谱条件测定, 测得重楼皂苷和重楼皂苷平均回收率分别为 97.27% 和 97.09%, RSD 分别为 1.22% 和 1.40% (n=6)。结果见表 1。

2.9 空白干扰试验 取空白制剂按供试品溶液制备方法制备阴性对照溶液。分别取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各 10 μL 进样, 记录色谱

图。从图中可见, 供试品色谱图中重楼皂苷和重楼皂苷的色谱峰能与其它成分很好地分离, 阴性对照溶液在重楼皂苷和重楼皂苷色谱峰处无干扰。结果见图 1。

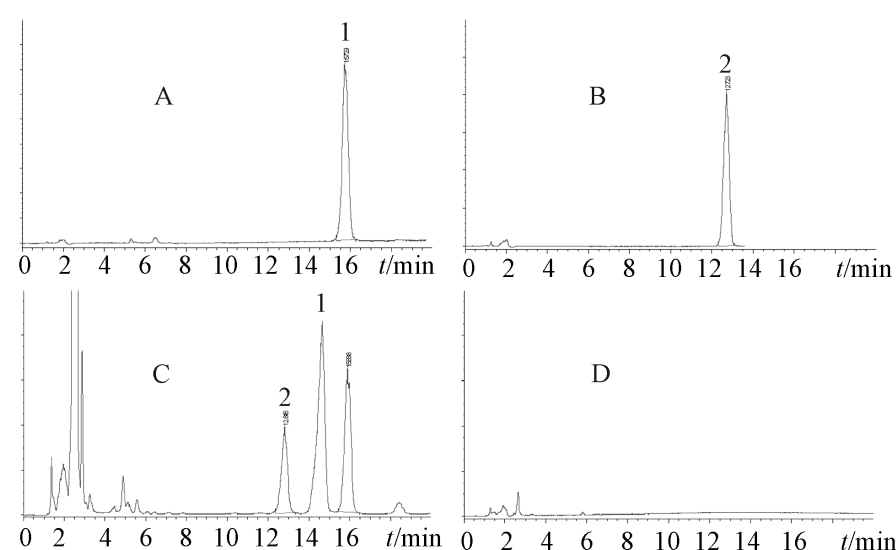
表 1 加样回收率测定

称重量 /g	样品含量 /mg		对照品加入量 /mg		检出量 /mg		回收率 /%	
	重楼皂苷	重楼皂苷	重楼皂苷	重楼皂苷	重楼皂苷	重楼皂苷	重楼皂苷	重楼皂苷
0.5133	2.294	1.519	1.760	1.200	4.021	2.674	98.13	96.25
0.5045	2.255	1.493	1.760	1.200	3.969	2.638	97.39	95.42
0.5104	2.281	1.511	2.200	1.500	4.425	2.976	97.45	97.67
0.5076	2.269	1.502	2.200	1.500	4.398	2.983	96.77	98.73
0.5049	2.257	1.495	2.640	1.800	4.861	3.224	98.64	96.06
0.5087	2.274	1.506	2.640	1.800	4.788	3.277	95.23	98.39

2.10 样品测定 分别对 3 批样品按上述含量测定方法进行测定, 以外标两点法对数方程计算重楼皂苷和重楼皂苷的质量分数。结果见表 2。

表 2 样品质量分数测定 (n=2) /mg·g⁻¹

样品批号	重楼皂苷	重楼皂苷
090501	4.47	2.96
090502	4.63	2.88
090503	4.51	3.07



A. 重楼皂苷对照品; B. 重楼皂苷对照品;
C. 供试品; D. 阴性对照溶液;
1. 重楼皂苷; 2. 重楼皂苷

图 1 清咽胶囊色谱图

3 小结

本制剂为中药复方制剂, 重楼为方中君药, 因此, 本文采用高效液相色谱法测定制剂中重楼皂苷和重楼皂苷的含量。由于皂苷类物质无紫外吸收或仅为末端吸收, 如用紫外检测器, 干扰较大, 且检测时间长。蒸发光散射检测器(ELSD)为通用质