

中药研究

HPLC - ELSD 法测定宫瘀净胶囊中黄芪甲苷的含量

张 伟¹ 马久太^{1,2} 王晓梅^{1,2} 单 娜^{1,2} 刘 峰^{1,2} 南景一^{1,2}

(1 陕西步长制药有限公司, 陕西咸阳, 712000; 2 陕西省中药制药工程技术研究中心)

关键词 宫瘀净胶囊; 黄芪甲苷

宫瘀净胶囊是在古方“当归补血汤”“人参黄芪汤”和“理气散瘀汤”基础上, 结合现代医学研究, 精制而成的一种纯中药新产品, 由黄芪、当归、三七等 8 味中药组成, 具有益气养血、祛瘀止血功能, 对于药物流产后导致的气血两虚、瘀血阻滞型阴道出血等病症的治疗, 具有很好的疗效。原质量标准采用薄层色谱扫描法测定黄芪甲苷, 存在灵敏度低、重现性差、操作繁琐等缺点。为了保证产品质量, 提高分析方法的灵敏性、重现性及方便性, 我们采用 HPLC - ELSD 对宫瘀净胶囊中黄芪甲苷进行含量测定, 并对方法学进行了研究, 报道如下。

1 仪器与试剂

3400A 型高效液相色谱仪; 蒸发光散射检测器; AR1140 电子天平; KQ · 250TB 超声波清洗器; MPT - 1 - 10 高纯水机。黄芪甲苷对照品(中国药品生物制品检定所提供, 批号 110781 - 200613), 宫瘀净胶囊(陕西步长制药有限公司生产, 批号 090411、090621、090814), 乙腈为色谱纯, 水为高纯水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 以乙腈 - 水(33: 67)为流动相; 蒸发光散射检测器漂移管温度为 50℃, 气流量为 1.5L/min, 增益为 4。理论板数以黄芪甲苷峰计算应不低于 4000。

2.2 对照品溶液的制备 取黄芪甲苷对照品适量, 精密称定, 以甲醇溶解, 制成每 1mL 含 1.154mg 的溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取本品 10 粒, 精密称定, 倾出内容物, 研细, 约取 4g, 精密称定, 加硅藻土 1g, 拌匀, 置索氏提取器中, 加石油醚(60℃ ~ 90℃)回流提取至无色, 石油醚弃去, 取出滤纸筒, 烘干, 再置索氏提取器中, 以甲醇回流提取 5.5h, 回收甲醇, 蒸干, 残渣

加 20mL 热水分次转移至分液漏斗中, 加正丁醇饱和的水 20mL 稀释, 用水饱和的正丁醇提取 5 次, 每次 20mL, 合并正丁醇液, 用 0.5% 氢氧化钠溶液洗涤 3 次, 每次 20mL, 弃去碱液, 继用正丁醇饱和的水洗至中性, 弃去水液, 正丁醇液水浴蒸干, 用甲醇溶解并转移至 5mL 量瓶内, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 微孔滤膜(0.45μm)滤过, 即得。

2.4 干扰性试验 依据处方制备不含黄芪的样品, 按照供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液, 分别精密吸取供试品溶液、对照品溶液与阴性对照溶液各 10μL, 注入液相色谱仪, 记录色谱图。结果表明, 阴性对照溶液色谱图中, 在黄芪甲苷对照品峰与供试品溶液色谱图相应保留时间处未出色谱峰, 基线分离良好。

2.5 标准曲线及线性范围 分别配制浓度为 0.115mg/mL、0.288mg/mL、0.577mg/mL、0.866mg/mL、1.154mg/mL 的系列标准溶液, 精密吸取各 10μL 进样, 按“2.1”色谱条件进行测定, 以进样量对数值(X)为横坐标, 峰面积对数值(Y)为纵坐标绘制标准曲线(见图 1), 得回归方程式: $Y = 1.732X + 2.013$, $r = 0.9999$ ($n = 5$)。结果表明, 黄芪甲苷在 1.154 ~ 11.540μg 范围与色谱峰面积呈良好的线性关系。见图 1。

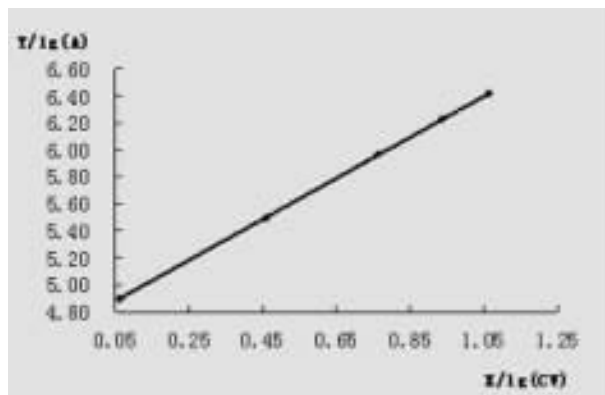


图 1 黄芪甲苷标准曲线

2.6 精密度试验 取宫瘀净胶囊(批号 090411)内容物适量, 按上述供试品溶液制备方法处理并按色谱条

件进行测定,连续进样6次,记录黄芪甲苷的峰面积,见表1, $RSD = 1.05\%$,说明该方法精密度良好。

2.7 重复性试验 取宫瘀净胶囊(批号090411)内容物适量,按上述供试品溶液制备方法制备6份供试液,在上述色谱条件下进样测定,记录黄芪甲苷的峰面积,见表2, RSD 为 1.09% ,说明该方法重复性好。

表1 精密度试验结果

试验号	1	2	3	4	5	6
峰面积积分值	2534796	2588421	2537166	2567932	2512934	2553774

表2 重复性试验结果

试验号	1	2	3	4	5	6
峰面积积分值	2511368	2554123	2586567	2573901	2546932	2580326

2.8 加样回收率试验 取已测定含量的宫瘀净胶囊样品内容物(批号090411)适量,共5份,精密称定,分别加入对照品溶液1mL(1.154mg/mL),按供试品溶液制备方法处理,测定峰面积,计算加样回收率,结果见表3。平均回收率为 99.85% , RSD 为 1.90% 。

表3 黄芪甲苷回收率测定结果

编号	取样量(g)	测得量(mg)	加入量(mg)	实测结果(mg)	回收率(%)
1	4.023	1.958	1.154	3.099	98.87
2	4.557	2.218	1.154	3.363	99.21
3	4.211	2.049	1.154	3.184	98.33
4	4.032	1.962	1.154	3.152	103.12
5	4.178	2.033	1.154	3.184	99.72

2.9 稳定性试验 取同一供试品溶液(批号090411),分别于0、1、2、4、8、12h进行测定,记录峰面积。其 RSD 为 0.96% ($n=6$),结果表明供试品溶液在12h内稳定。

表4 稳定性试验结果

时间(h)	0	1	2	4	8	12
峰面积积分值	2537982	2543521	2589032	2590332	2548192	2583671

2.10 样品含量测定 取宫瘀净胶囊样品(批号090411、090621、090814)适量,精密称定,按供试品溶液制备方法处理并按色谱条件进行测定,记录黄芪甲苷的峰面积并计算其含量,结果见表5。采用薄层色谱法作为对照实验,测定宫瘀净胶囊中的黄芪甲苷含量。先用二次展开法将宫瘀净胶囊中的黄芪甲苷与三七中的皂苷分离,然后采用薄层扫描色谱法测定胶囊中的黄芪甲苷含量,结果见表5。对3批宫瘀净胶囊中黄芪甲苷分别进行 t 检验,该方法与本实验中黄芪甲苷含量测定结果进行比较,无显著性差异。

万方数据

表5 宫瘀净胶囊中黄芪甲苷含量测定结果

测定方法	批号	含量(mg/粒)	$RSD\%$ ($n=5$)	测定方法	批号	含量(mg/粒)	$RSD\%$ ($n=5$)
HPLC法	090411	0.258	0.21	双波长薄层扫描法	090411	0.254	1.25
	090621	0.260	0.37		090621	0.283	1.74
	090814	0.277	0.46		090814	0.263	1.32

3 讨论

黄芪甲苷是中药黄芪的主要活性成分,常作为指标性成分应用于黄芪药材及其制剂的质量控制。黄芪甲苷含量多采用薄层扫描法测定^[1-2],而薄层扫描法的稳定性和重现性相对较差,且操作繁琐。黄芪甲苷成分的紫外末端吸收较差($\lambda_{max} = 210nm$)^[3],采用HPLC-UV吸收强度较弱,受溶剂影响很大,稳定性以及准确性均受到影响,使分析很难进行。蒸发光散射检测器为质量型检测器,不受样品的光学特性、官能团的影响^[4-5],分离效果很好,灵敏度及稳定性高。本品为中药复方制剂,所含成分复杂、干扰大,试验采用高效液相-蒸发光散射检测器法检测宫瘀净胶囊中黄芪甲苷的含量,结果专属性好、方法稳定、可靠,可作为该制剂的质量控制的方法。

参考文献

- [1] 王宝,苏健,鲁静. 黄芪甲苷的检测在中药质控中的应用. 中国中药杂志,1996,21(3):161.
- [2] 刘艳,付超美,王世宇. 薄层扫描法测定强骨颗粒中黄芪甲苷的含量. 成都大学学报(自然科学版),2008,18(2):125.
- [3] 刘晔,吴禾. RP-HPLC法测定黄芪中黄芪甲苷的含量. 中草药,1998,29(S1):83.
- [4] 陈玉杰,金红星,李萍,等. 基于HPLC-ELSD法的中药复方制剂中黄芪甲苷含量测定. 安徽农业科学,2009,29(35):41-43.
- [5] 孔晓华,雷玉萍. 复肝能片质量控制方法的研究. 中国现代药物应用,2010,4(10):109-110.

(2011-05-24 收稿)◎

投稿须知:科技论文的基本要求

科技论文与文学作品的区别,就在于逻辑、语法、修辞方面要求比较严格。撰写时需要注意以下几点。

1. 概念必须明确,不能含混其词。这就需要掌握明确概念的逻辑方法。

2. 严格掌握修辞分寸,不容任意夸张。这就需要了解语法、修辞的基本知识。

3. 力求简明扼要,不宜过多渲染。这就需要强调实事求是的态度。