

# HPLC-ELSD测定前列舒乐胶囊中黄芪甲苷的含量

旷春兰 夏淑英 康爱华 肖绍川 刘厚权

江西普正制药股份有限公司 江西 吉安 343000

**[摘要]**目的:应用高效液相色谱法-蒸发光散射测定前列舒乐胶囊中黄芪甲苷的含量。方法:采用高效液相色谱法(HPLC)联合蒸发光散射(ELSD)检测器,色谱条件:安捷伦 XDB-C18 (150mm×4.6mm, 5μm) 色谱柱,以乙腈-水(35:65)为流动相;流速1.0ml/min;柱温25℃;蒸发光散射检测条件,氮气流量流速1.6ml/min,漂移管温度:40℃,雾化温度:40℃。结果:黄芪甲苷在0.4797-3.8372mg/ml的范围内呈现良好的线性关系,得线性回归方程式 $y=105.6x-35.88$ ,  $r=0.999$ 。平均加样回收率99.6%,RSD为1.0%。结论:该方法准确可信、操作简便、结果可靠、重复性好,可用于前列舒乐胶囊的质量控制。

**[关键词]**前列舒乐胶囊;黄芪甲苷;含量;高效液相色谱仪

**[DOI]** 10.12252/j.issn.2096-627X.2021.12.164

前列舒乐胶囊由淫羊藿、黄芪、蒲黄、车前草、川牛膝组成的中药复方制剂。具有补肾益气,化痰通淋的功效。临床用于脾肾双虚、气滞血瘀,前列腺增生,慢性前列腺炎;面色晔白,神疲乏力,腰漆疲软无力,小腹坠胀,小便不爽,点滴不出,或尿频、尿急、尿通涩痛。目前前列舒乐胶囊现有国家药品标准中只用单一成分淫羊藿苷对产品质量评价,黄芪药材在其处方中属于臣药,但尚未有定量检测方法对其质量进行控制。黄芪具有补气升阳,固表止汗,利水消肿,生津养血等功效。所以增加黄芪的含量测定更有利于反映前列舒乐胶囊质量,研究黄芪甲苷的定量分析方法并控制其含量对前列舒乐胶囊的质量评价具有重要的意义。为了更有效、更全面地控制产品质量,本研究在原质量标准的基础上,增加了黄芪甲苷的HPLC-ELSD含量测定方法。

## 1 仪器与试药

### 1.1 仪器设备

美国Agilent 1260型高效液相色谱仪(含G1311C四元泵、G1329B自动进样器、G1314F检测器、Chem32工作站);BSA224S-CW电子分析天平(赛多利斯科学仪器有限公司);9960D型超声波清洗仪(CBL科贝尔)。

### 1.2 试剂与试药

乙腈(色谱纯;来源:西陇科学股份有限公司)、甲醇(分析纯;来源:西陇科学股份有限公司)、黄芪甲苷对照品(批号:110781-201717;来源:中国食品药品检定研究院)、实验用水均来自自制超纯水。6批前列舒乐胶囊(批号:181102、191101、200401、200702、210401、210402,规格:每粒装0.4g)由江西普正制药股份有限公司生产和提供。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件与系统适用性试验

用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂:乙腈-水(35:65)为流动相;柱温为25℃;流速为每分钟1.0ml;气流量1.6ml/min,漂移管温度:40℃,雾化温度:40℃。用蒸发光散射检测。理论板数按黄芪甲苷峰计算应不低于4000。

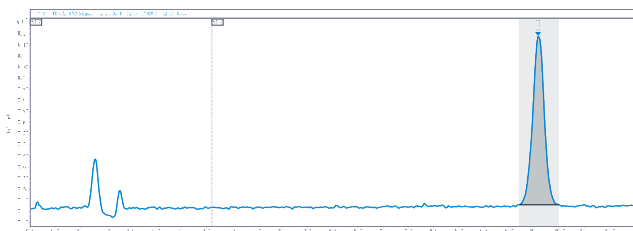


图 1

即得。

2.2对照品溶液的制备:称取黄芪甲苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成每1ml含0.2mg的溶液,图谱见图1。

2.3供试品溶液制备:取本品内容物,研细,取约1g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇50ml,称定重量,超声处理(功率250W,频率25kHz)30分钟,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,精密吸取续滤液25ml,蒸干,残渣加水50ml分次溶解,用水饱和的正丁醇振摇提取4次,每次30ml,合并正丁醇提取液,用氨试液洗涤2次,每次50ml,再用水洗涤2次,每次25ml,取正丁醇液蒸干,残渣加甲醇使溶解并转移至5ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

测定:分别精密吸取对照品溶液5μl,10μl,供试品溶液5-20μl,注入液相色谱仪,测定,用外标两点法对数方程计算,即得。本法测定的相对标准偏差不得过5.0%。图谱见图2。

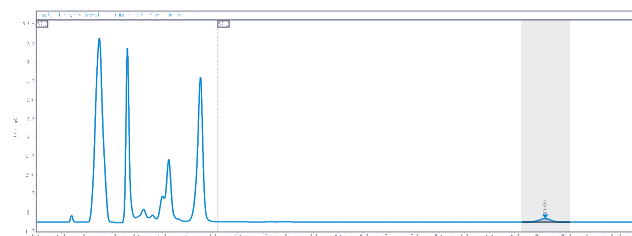


图 2

### 2.4 提取溶剂的选择

取前列舒乐胶囊供试品内容物1g分别用甲醇超声后用饱和正丁醇萃取、4%浓氨试液的80%甲醇溶液制备供试液,取供试液注入液相色谱仪,结果表明甲醇+水饱和正丁醇提取效果明显优于4%浓氨试液的80%甲醇溶液,甲醇+水饱和正丁醇提取出的样品颜色较纯,杂质峰形较低,因此选择甲醇+水饱和正丁醇作为供试品的提取溶剂。

### 2.5 提取方式选择

取前列舒乐胶囊供试品内容物1g,用甲醇50ml,分别采用超声30分钟、加热回流1小时处理样品得供试品溶液,取供试品溶液注入液相色谱仪,结果表明超声提取效果优于回流提取,因此选择超声30分钟作为供试品的提取方式。

## 3 方法学验证

3.1精密度试验:取同一份前列舒乐胶囊供试品溶液,连续进样六次计算其RSD,结果见表1。结果表明,连续六次进样,其RSD2.7%(标准不得过5.0%),表明方法精密度良好。

表1 精密度试验数据

进样次数	峰面积	RSD (%)
1	47.17	
2	49.50	
3	49.99	2.7
4	50.92	
5	48.42	
6	48.67	

3.2重复性试验：平行制备6份前列舒乐胶囊供试品溶液进行测定计算其RSD，结果见表2。结果表明，平行制备6份前列舒乐胶囊供试品溶液进行测定，其RSD2.2%（标准不得过5.0%），表明方法重复性良好。

表2 重复性试验数据

样品	含量 (ug/粒)	RSD (%)
S1	188.0	
S2	197.5	
S3	190.0	2.2
S4	189.9	
S5	186.8	
S6	195.1	

3.3线性考察试验：精密称取黄芪甲苷对照品适量，加甲醇制成每1ml含0.2mg的溶液作为贮备液，分别取2.5ul、3.0ul、4.0ul、5.0ul、10.0ul、20.0ul注入液相色谱仪中，测定峰面积，以峰面积为纵坐标，以浓度为横坐标，绘制标准曲线，得线性回归方程式 $y=105.6x-35.88$ ， $r=0.999$ 。结果见表3和图3，前列舒乐胶囊在此浓度范围内进样量与峰面积呈良好的线性关系。

表3 线性考察试验数据

浓度	峰面积
0.479655	17.73
0.575586	22.75
0.767448	35.28
0.95931	60.86
1.91862	165.23
3.83724	366.49

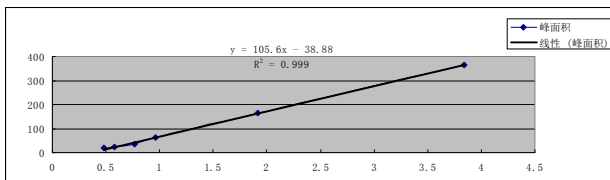


图3

3.4耐用性考察试验：取同一份前列舒乐胶囊供试品溶液，考察不同品牌色谱柱，测定数据见表4，结果表明，两种不同品牌色谱柱分析结果的相对平均偏差为1.7%。

表4 耐用性考察试验

色谱柱类型	含量 (ug/粒)	相对平均偏差 (%)
安捷伦-150mm	191.2	1.7
依利特-250mm	198.0	

3.5样品的测定：取6批不同批次的前列舒乐胶囊样品，按“供试品溶液制备”项下方法制备样品溶液进行测定，测定数据见表5。

表5 样品测定数据

样品 (批号)	含量 (ug/粒)
210401	214.2
210402	199.9
200401	168.4
200702	203.7
191101	205.4
181102	199.3

3.6回收试验：取前列舒乐胶囊样品（批号：210401，含量214.2ug/粒）20粒的内容物，研细，混合均匀，取约0.5g，共6份，分别精密称定，置具塞锥形瓶中，分别精密加入黄芪甲苷对照品溶液（0.2025mg/ml）10ml，按“供试品溶液的制备”项下方法制备，按“色谱条件与系统适用性试验”项下试验，结果见表6。结果表明平均回收率99.6%，RSD为1.0%，显示回收试验结果良好。

表6 前列舒乐胶囊含量回收试验结果

取样量/g	样品中含量/ug	对照品加入量/ug	测得量/ug	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.5011	248.6	202.5	450.6	99.75	99.6	1.0
0.5024	254.3	202.5	455.2	99.21		
0.5063	255.2	202.5	460.3	101.28		
0.5041	263.5	202.5	465.4	99.70		
0.5028	249.7	202.5	451.8	99.80		
0.5017	257.4	202.5	456.1	98.12		

4 结论

前列舒乐胶囊为江西普正制药有限公司生产品种，已上市销售多年。检测指标原标准中没有黄芪甲苷含量检测。《中华人民共和国药典》2015年版一部中黄芪药材项下“黄芪甲苷”的检测条件为蒸发光散射，故参考黄芪作为前列舒乐胶囊“黄芪甲苷”的检测依据。戚继红、沈小玲和刘和平等<sup>[1-3]</sup>对黄芪甲苷的含量检测方法进行了研究，本次实验建立的黄芪甲苷含量测定方法进一步对提取的溶剂、提取的方式进行了考察，根据实验结果确定了最佳提取溶剂为甲醇超声30分钟再用水饱和正丁醇萃取。同时对色谱柱也进行比较，优选确定适宜色谱柱为安捷伦色谱柱（Eclipse XDB-C18 4.6\*250mm 5um）。通过方法学考察，本实验采用“用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；乙腈-水（35：65）为流动相；柱温25℃；蒸发光散射检测条件，氮气流量流速1.6ml/min，漂移管温度：40℃，雾化温度40℃。理论塔板数按黄芪甲苷峰计算应不低于4000。经过验证该方法线性关系良好、加样回收率良好、精密度、重复性良好、准确可信、操作简便、结果可靠，可用于前列舒乐胶囊的质量控制。

参考文献

[1] 戚继红, 沈伟. 高效液相色谱法-蒸发光散射检测法测定前列舒乐黄芪甲苷的含量[J]. 黑龙江医药, 2013, 26(2): 174-176.  
 [2] 沈小玲. 含黄芪制剂中黄芪甲苷的含量测定[J]. 科技创新导报, 2015, 2: 36-37.  
 [3] 刘和平, 彭招华, 张润容等. 黄芪药材中黄芪甲苷UPLC-ELSD含量测定方法的优化[J] 中国实验方剂学杂志, 2018, 21(5): 92-94.  
 [4] 中华人民共和国药典: 四部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.

作者简介:

旷春兰: 1993.02.10, 女, 江西吉安人, 助理工程师, 研究方向: 质量研究