

品约0.5 g,共 6 份,精密加入不同浓度的黄芪甲苷对照品,按“2.3.2”供试品溶液制备方法处理。精密吸取 10 μL 进样测定。结果见表 1,平均加样回收率为100.91%,RSD 为2.54%。

表 1 加样回收率试验结果(n=5)

编号	样品含量 /μg	加入量 /μg	测得值 /μg	回收率 / %	均值 / %	RSD / %
1	102.25	25.10	127.35	101.78		
2	102.30	25.10	127.40	98.56		
3	102.28	50.28	152.56	99.25		
4	102.26	50.28	152.54	103.25	100.91	2.54
5	102.18	100.55	202.73	102.42		
6	102.32	100.55	202.87	100.19		

2.3.7 样品含量测定 精密称取本品 2.0 g,研细,按“2.3.2”方法制备 3 批样品的供试液,取样品供试液和对照品溶液,分别进样 10 μL,按上述色谱条件测定,3 批样品中黄芪甲苷的含量分别为 14.125,14.000,14.320 mg·g⁻¹。

3 讨论

屏风固金颗粒由多味中药组成,本实验对其中的 3 种主要药物进行了薄层色谱鉴别,并做了阴性对照试验。结果表明,各特征斑点均不受其他药物的干扰、专属性较强、简单易行,可作为本品定性检

测指标。黄芪为本品的君药,具有增强免疫力、抗炎、抗菌及护肝作用^[7],黄芪甲苷是黄芪的主要有效成分,实验中采用先进的蒸发光散射-高效液相色谱技术,测定其含量;黄芪、白术、太子参等均含多糖,是重要的药理活性物质^[8,9],本实验采用硫酸-苯酚法,测定了总多糖含量。结果显示定量测定方法简便、准确、可靠。

参考文献:

[1] 夏玉凤,杨勤,薛丽琼,等.玉屏风口服液的质量标准研究[J].中成药,2003,25(12):967-970.
[2] 苗明三,李振国.现代实用中药质量控制技术北京[M].北京:人民卫生出版社,2000,12:518.
[3] 中国药典.一部[S].2005:59.
[4] 张青,张天民.苯酚-硫酸比色法测定多糖含量[J].山东食品科技,2004,7:17-18.
[5] 曹湘萍,梁建宁,何晓艳,等. HPLC-ELSD 法测定乙肝宁颗粒中黄芪甲苷的含量[J].中成药,2005,27(2):165-167.
[6] 赵灵芝,朱丹妮,严永清. HPLC-ELSD 法测定黄芪中黄芪甲苷的含量[J].药物分析杂志,1999,19(6):403.
[7] 梅全喜,毕焕新.现代中药药理手册[M].北京,中国中医药出版社,1998,10:528.
[8] 丁保金,金丽琴,吕建新.多糖的生物活性研究进展[J].中国药理学杂志,2004,239(8):561-564.
[9] 辛娟,王远亮,郭莉霞,等.多糖的生物活性及其应用[J].生物医学工程研究,2004,23(4):179-182.

[收稿日期]2005-09-09

高效液相色谱法测定利咽片中芒果苷的含量

肖萍¹,黄兴振² (1.广西医科大学第四附属医院,广西 柳州 545005; 2.广西医科大学,广西 南宁 530021)

[摘要] 目的:建立利咽片中芒果苷的含量测定方法。方法:色谱柱为 Kromasil-C₁₈ (4.6 mm ×200 mm,5μm),流动相为乙腈-0.5%磷酸-三乙胺(20 ∶79.5 ∶0.5);流速为 1 mL·min⁻¹,柱温为室温,检测波长为 258 nm,进样量为 20 μL,外标法计算含量。结果:芒果苷在5.12~51.20 mg·L⁻¹范围内峰面积与浓度呈良好的线性关系,A=35 926 C-14 286,r=0.999 9,平均回收率为102.22%,RSD 为1.10%(n=6)。结论:方法简便、准确、重现性好,可作为控制产品质量的定量依据。

[关键词] 利咽片;芒果苷;高效液相色谱法

[中图分类号] R965 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5213(2006)08-0985-03

Determination of mangiferin in Liyan tablets by HPLC

XIAO Ping¹,HUANG Xing-zhen² (1. The Fourth Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Guangxi Liuzhou 545005, China; 2. Guangxi Medical University, Guangxi Nanning 530021, China)

ABSTRACT:OBJECTIVE To determination the content of mangiferin in Liyan tablets. METHODS The content of mangiferin in Liyan tablets was determined by RP-HPLC with kromasil - C₁₈ column, the mobile phase consisted of acetonitrile - 0.5% phosphoric acid-triethylamine (20 ∶79.5 ∶0.5) with a flow rate of 1 mL·min⁻¹, and the injection volume was 20 μL. The external standtard was used and the wavelength of the detector was set at 258nm. RESULTS The linear range was 5.12 - 51.20 mg·L⁻¹ and the correlation coefficient was 0.999 9. The average recovery and the relative standard deviation were 102.22% and 1.10% respectively. CONCLUSION The method is simple and accurate and the precision is good. It is proved to be suitable

[作者简介] 肖萍,女,学士,主管药师,电话:0772-3815091, E-mail: lzxp01@sina.com

for the quality control method for Liyan tablets.

KEY WORDS : Liyan tablet; mangiferin; HPLC

利咽片是由芒果叶提取物与牛磺酸组成的复方片剂,具有解热、消炎、止咳与免疫调节作用。研究表明,芒果苷是芒果叶的主要活性成分,具有止咳、化痰等作用^[1]。本实验建立了高效液相色谱法测定利咽片中有效成分芒果苷含量的方法,方法简便、准确、重复性好。

1 材料

日本岛津 HPLC - 9A 系统,配 SPD - 6Av 紫外检测器;芒果苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号 111607-200301);利咽片(本院自制,规格:0.4 g/片,批号 050306,050308,050309);乙腈为色谱纯;磷酸及三乙胺均为分析纯;水为注射用水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱:Kromasil C₁₈柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.5%磷酸-三乙胺(20:79.5:0.5);流速:1 mL · min⁻¹;检测波长:258 nm;柱温:室温;进样量:20 μL。理论塔板数按芒果苷峰计算应不低于3 000。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取芒果苷对照品 0.051 2 g,置 100 mL 棕色容量瓶中,加流动相适量,超声溶解,制成 0.512 g · L⁻¹ 的芒果苷溶液,经微孔滤膜(0.45 μm)滤过,即得。

2.2.2 供试品溶液 取利咽片 10 片,精密称定,研细,精密称取片剂粉末约 0.2 g,置 100 mL 量瓶中,加甲醇,超声 15 min 溶解后,放冷,加甲醇至刻度,摇匀,放置,取上清液经微孔滤膜(0.45 μm)滤过,精密量取续滤液 5~50 mL 的量瓶中加流动相稀释至刻度。

2.2.3 阴性对照溶液 按处方比例和工艺,同法制成缺芒果叶提取物的阴性对照品,按供试品溶液制备方法制备即得。

2.3 专属性 精密吸取供试品溶液、阴性对照溶液、对照品溶液各 20 μL 注入液相色谱仪中,由色谱图可知,在与对照品色谱峰保留时间($t_R = 5.63$ min)相应的位置上,供试品溶液具有相同保留时间的色谱峰出现,而阴性对照溶液在此峰位无吸收,对本品中芒果苷的测定无干扰。色谱图见图 1。

2.4 标准曲线的制备 精密吸取上述对照品溶液 1,3,5,6,8,10 mL 分别置于 100 mL 容量瓶中,加流动相定容,配制成浓度为 5.12,15.36,25.60,30.72,40.96,51.20 mg · L⁻¹ 的标准溶液,照 2.1 下

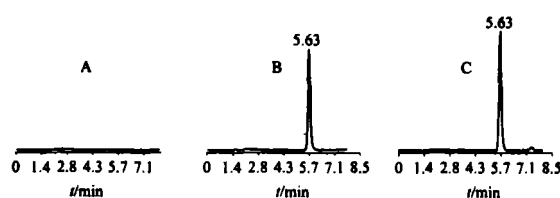


图 1 芒果苷色谱图

A. 阴性对照溶液;B. 对照品溶液;C. 样品溶液

Fig 1 chromatograms of mangiferin

A. negative control; B. reference substance; c. sample

的方法进样测定,以芒果苷峰面积 A 为纵坐标,浓度 C (mg · L⁻¹) 为横坐标进行线性回归,得回归方程为 $A = 35\,926 C - 14\,286$, $r = 0.999\,9$ 。结果表明,芒果苷在 5.12~51.20 mg · L⁻¹ 范围内峰面积与浓度呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验 取浓度为 30.72 mg · L⁻¹ 的对照品溶液照 2.1 项下的方法重复进样 6 次,测得芒果苷色谱峰面积 RSD 为 0.33%。表明精密度良好。

2.6 重复性试验 精密称取同一批号样品 6 份(批号 050306),按 2.2.2 项下分别制备供试品溶液,依法测定,照 2.1 项下的方法进样,得芒果苷色谱峰面积 RSD 为 0.21%。表明重复性好。

2.7 稳定性试验 精密吸取同一批供试品溶液,室温放置,分别于 0,2,4,8,12,24 h 按上述色谱条件进样,测得芒果苷色谱峰面积 RSD 为 1.38%。结果表明,供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.8 回收率试验 取 2.6 项下的已知含量的片剂粉末适量(约含芒果苷 20 mg),精密称定,加入一定量的芒果苷对照品,按“2.2.2”项方法配制样品,配制成高、中、低 3 种浓度,按“2.1”项色谱条件测定芒果苷的含量,每个浓度平行测定 6 次,计算回收率。结果见表 1。

表 1 芒果苷回收率试验结果($n = 6$)

Tab 1 Result of recovery of mangiferin($n = 6$)

取样量 / mg	对照品加入量 / mg	实测值 / mg	回收率 / %	平均回收率 / %	RSD / %
19.95	10.24	30.52 ± 0.07	103.2 ± 0.7		
20.36	20.48	41.01 ± 0.08	100.8 ± 0.4	102.22	1.10
19.28	30.72	50.8 ± 0.3	102.6 ± 1.0		

2.9 样品测定 取样品 3 批,按“2.2.2”项供试品溶液的制备方法操作,以“2.1”项色谱条件测定,每批样品测定 3 次取平均值,按外标法计算每片中芒果苷的含量,每片含芒果苷不得少于 55 mg,结果见表 2。

表 2 样品中芒果苷的含量测定结果 ($n=3$)

Tab 2 Results of content determination of mangiferin ($n=3$)

批号	含量/ $\text{mg} \cdot \text{片}^{-1}$	平均含量/ $\text{mg} \cdot \text{片}^{-1}$	RSD/ %
050306	57.70	59.03	2.00
	59.46		
	59.95		
050308	60.91	59.84	1.56
	59.26		
	59.34		
050309	61.86	61.96	0.91
	61.46		
	62.57		

3 讨论

用醇-水系统时^[2,3],芒果苷的峰型不够尖锐,峰比较宽,而且有少许的拖尾,出峰时间在 10 min 之后,既不准确也不方便质量控制。经过调整流动相

系统为乙腈-水的系统,峰形明显改善,且出峰时间也提前。

本实验中,三乙胺的量是重要的影响因素。当三乙胺浓度小于 0.5 % 时 (pH 3) 峰形较好,但当其浓度大于 0.7 % (pH 3.5) 峰形较宽,且有少许拖尾,影响峰形的因素是否与 pH 值的改变有关,尚需进一步研究。

参考文献:

- [1] 邓家刚,郑作文,曾春晖. 芒果苷的药效学试验研究[J]. 中医药学刊,2002,7(12):37.
- [2] 刘华刚,黄海滨,陈燕军. HPLC 法测定芒果止咳片中芒果苷的含量[J]. 中成药,1997,19(10):14-15.
- [3] 陈万生,李力,乔传卓,等. 不同产地知母中芒果苷、新芒果苷的含量测定[J]. 中国中药杂志,2000,25(2):87-88.

[收稿日期]2005-08-20

高效液相-蒸发光散射检测器法测定知母中菝葜皂苷元含量

郭继红¹,杨毅恒²,张艳华¹ (1. 北京大学临床肿瘤学院,北京 100036;2. 北京大学第三医院,北京 100083)

[摘要] 目的:采用高效液相-蒸发光散射检测器 (HPLC-ELSD) 法测定知母中菝葜皂苷元的含量。方法:ODS-C₈ 柱,流动相为甲醇-水,梯度洗脱。因菝葜皂苷元为一甾体皂苷元,无紫外特征吸收,选择了通用型检测器—蒸发光散射检测器 (ELSD)。结果:菝葜皂苷元在 0.12~4.0 μg 范围内具良好的线性关系, $r=0.9998$, 平均回收率为 98.3 %。结论:本方法有较高的灵敏度和回收率,可用于知母中菝葜皂苷元的含量测定。

[关键词] 知母;菝葜皂苷元;高效液相色谱;蒸发光散射检测器

[中图分类号] R927.2 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5213(2006)08-0987-02

Determination of sarsasapogenin in *Anemarrhena asphodeloides* by HPLC-ELSD

GUO Ji-hong¹, YANG Yi-heng², ZHANG Yan-hua¹ (1. The Hospital of Clinical Oncology, Beijing University, Beijing 100036, China; 2. The Third Hospital, Beijing University, Beijing 100083, China)

ABSTRACT:OBJECTIVE To determine the content of sarsasapogenin in *Anemarrhena asphodeloides* by HPLC. **METHODS** ODS column and a mobile phase of methanol-water with gradient elution were used with a universal detector Evaporation Light Scattering Detector (ELSD). **RESULTS** The calibration curve was linear in the range of 0.12 - 4.0 μg ($r=0.9998$) and the recovery was 98.3 %. **CONCLUSION** The method can be used for determination of sarsasapogenin in *Anemarrhena asphodeloides*.

KEY WORDS: *Anemarrhena asphodeloides*; sarsasapogenin; HPLC; ELSD

知母 (*Anemarrhena asphodeloides* Bunge) 为百合科知母属植物的干燥根茎。近年药理研究证明具有抗菌、解热、降血糖等作用。知母有效成分为多种甾体皂苷,其皂苷元主要为菝葜皂苷元 (sarsasapogenin)^[1]。菝葜皂苷元的测定方法目前有薄层扫描法和液相色谱法^[2],因菝葜皂苷元为甾体皂苷元,分子中没有共轭结构,无紫外特征吸收,对样品的检测造成了一定的难度。为此,本实验采用高效液相-蒸发光散射检测器 (ELSD) 测定知母中菝葜皂苷元

的含量。

1 材料

岛津 LC-10A 型高效液相色谱仪,Alltech 500 蒸发光散射检测器 (ELSD);菝葜皂苷元对照品 (中国药科大学天然药物化学教研室,批号 20050316 纯度 99.1 %);知母药材 (江苏省药材公司)。

2 方法和结果

2.1 色谱条件 色谱柱:Inertsil C₈₋₃ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm 加 C₈ 预柱),流动相:甲醇-水 (88 :

[作者简介] 郭继红,女,学士,主管药师,电话 010-88196166, E-mail: gh6302@sina.com.cn