

化痰无糖颗粒的质量标准研究[△]

隋继英^{1*}, 刘向红², 陈金娜², 窦明金^{1#}(1. 山东省医学科学院附属医院, 济南 250031; 2. 山东大学齐鲁医院, 济南 250012)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)22-3083-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.22.13

摘要 目的: 建立化痰无糖颗粒的质量标准。方法: 采用薄层色谱法(TLC)对制剂中水蛭、苍术、当归进行定性鉴别; 采用高效液相色谱法(HPLC)测定制剂中人参皂苷Rg₁、Re的含量, 色谱柱为Phenomenex Luna C₁₈, 流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液(梯度洗脱), 流速为1.0 mL/min, 检测波长为203 nm, 柱温为25 ℃, 进样量为10 μL; 采用HPLC法测定制剂中落新妇苷的含量, 色谱柱为Phenomenex Luna C₁₈, 流动相为甲醇-0.1%冰醋酸溶液(37:63, V/V), 流速为1.0 mL/min, 检测波长为291 nm, 柱温为25 ℃, 进样量为10 μL。结果: 水蛭、苍术、当归的TLC图斑点清晰, 分离度好, 阴性对照无干扰。人参皂苷Rg₁、Re和落新妇苷检测质量浓度线性范围分别为16.3~261.6 μg/mL($r=0.999\ 9$)、5.9~95.2 μg/mL($r=0.999\ 8$)、3.2~51.2 μg/mL($r=0.999\ 6$); 定量限分别为16.3、5.9、3.2 μg/mL, 检测限分别为2.68、1.74、1.09 μg/mL; 精密密度、稳定性、重复性试验的RSD均小于3%; 加样回收率分别为96.02%~101.00%(RSD=1.66%, $n=6$)、98.04%~100.50%(RSD=0.98%, $n=6$)、94.18%~100.55%(RSD=2.41%, $n=6$); 耐用性试验的RSD均小于3%。结论: 所建标准可用于化痰无糖颗粒的质量控制。

关键词 化痰无糖颗粒; 质量标准; 人参皂苷Rg₁; 人参皂苷Re; 落新妇苷; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

Study on the Quality Standard for Glycoprival Huayu Granules

SUI Jiying¹, LIU Xianghong², CHEN Jinna², DOU Mingjin¹(1. The Affiliated Hospital of Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250031, China; 2. Qilu Hospital of Shandong University, Jinan 250012, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard for Glycoprival huayu granules. METHODS: TLC was used for qualitative identification of *Hirudo*, *Atractylodes lancea* and *Angelica sinensis*. HPLC method was adopted to determine the contents of ginsenoside Rg₁ and ginsenoside Re. The determination was performed on Phenomenex Luna C₁₈ with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was set at 203 nm, and the column temperature was 25 ℃. The sample size was 10 μL. The content of astilbin was determined by HPLC. The determination was performed on Phenomenex Luna C₁₈ with mobile phase consisted of methanol-0.1% acetic acid solution (37:63, V/V) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was set at 291 nm, and the column temperature was 25 ℃. The sample size was 10 μL. RESULTS: TLCs of *Hirudo*, *A. lancea* and *A. sinensis* showed clear spots and good separation without interference from negative control. The linear ranges of ginsenoside Rg₁, ginsenoside Re and astilbin were 16.3-261.6 μg/mL ($r=0.999\ 9$), 5.9-95.2 μg/mL ($r=0.999\ 8$) and 3.2-51.2 μg/mL ($r=0.999\ 6$). The limits of quantitation were 16.3, 5.9, 3.2 μg/mL; the limits of detection were 2.68, 1.74, 1.09 μg/mL, respectively. RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 3%. The recoveries of ginsenoside Rg₁, ginsenoside Re and astilbin were 96.02%-101.00% (RSD=1.66%, $n=6$), 98.04%-100.50% (RSD=0.98%, $n=6$) and 94.18%-100.55% (RSD=2.41%, $n=6$). RSDs of durability tests were all lower than 3%. CONCLUSIONS: Established standard can be used for the quality control of Glycoprival huayu granules.

KEYWORDS Glycoprival huayu granules; Quality standard; Ginsenoside Rg₁; Ginsenoside Re; Astilbin; TLC; HPLC

化痰无糖颗粒是山东大学齐鲁医院临床经验方剂化痰颗粒的无糖剂型^[1], 由人参、蒲公英、土茯苓、漏芦、水蛭、苍术、牛膝、当归等13味药材组合而成, 具有补益正气、消肿散结之功效, 临床多用于各种肿瘤防治及肿瘤放疗、手术后的辅助治疗。其制剂工艺为将人参、水蛭制成超微粉, 其余11味药材经水煎煮、浓缩、干燥得干浸膏粉, 加入辅料混匀, 以干法制粒^[1]。现代药理研究

表明, 人参具有抗肿瘤、抗老年痴呆、抗脑缺血及调节免疫等作用^[2]; 土茯苓具有抗痛风、利尿、镇痛、保肝、抗肿瘤等作用^[3]; 水蛭具有抑制肿瘤生长、增殖及诱导凋亡, 抑制肿瘤血管生成、抗血小板聚集和抗凝血等作用^[4]; 苍术具有抑制胃酸分泌、促进胃肠运动及胃排空、降血糖、抗菌等作用^[5]; 当归具有促进造血、抗心律失常、抗血小板聚集、提高机体免疫功能、抗肿瘤、保护脏器等作用^[6]。基于此, 本研究采用薄层色谱法(TLC)对该制剂中水蛭、苍术、当归进行定性鉴别^[7], 并采用高效液相色谱法(HPLC)对该制剂中人参皂苷Rg₁、Re和落新妇苷进行含量测定^[8-9], 以期全面、综合地评价该制剂质量。

△ 基金项目: 山东省教育厅课题(No.鲁教科鉴字[2013]第76号)

* 主管药师。研究方向: 药品调剂管理与药学服务。电话: 0531-58628606。E-mail: 1259223725@qq.com

通信作者: 主任药师, 硕士。研究方向: 药事管理与合理用药。电话: 0531-58628605。E-mail: suijiying@163.com

1 材料

1.1 仪器

6CE型HPLC仪,包括2996检测器、Empower600色谱工作站(美国Waters公司);RE-52A型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);CP2250型电子分析天平[奥豪斯仪器(上海)有限公司];SK5200H型超声波清洗机、876-I型真空干燥箱(南通科学仪器厂);KDM型控温电热套(山东鄞城华鲁电热仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

化痰无糖颗粒(山东大学齐鲁医院中药制剂实验室自制,批号:20120504、20120520、20120524,规格:15g/袋);人参皂苷R_g对照品(批号:110703-201027,纯度:96.3%)、人参皂苷Re对照品(批号:110754-201123,纯度:89.1%)、落新妇苷对照品(批号:111798-201102,纯度:93.4%)、阿魏酸对照品(批号:110773-201106,纯度:98%)、水蛭对照药材(批号:121061-200904)、苍术对照药材(批号:120932-201006)均购自中国食品药品检定研究院;硅胶G(200~300目,青岛海洋化工有限公司);乙腈、甲醇、磷酸、冰醋酸均为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别

2.1.1 水蛭 取样品10.08g,加甲醇40mL,超声(功率:250W,频率:40kHz,下同)处理15min,滤过,取滤液作为供试品溶液。取水蛭对照药材1.00g,按供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。按化痰无糖颗粒处方和工艺制备缺水蛭的阴性样品,并按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按2015年版《中国药典》(四部)TLC法^[10]试验,吸取上述3种溶液各10μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯(4:1,V/V)为展开剂,预饱和30min,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,在105℃加热15min,分别于紫外光灯(365nm)和日光灯下检视。结果,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰,详见图1。

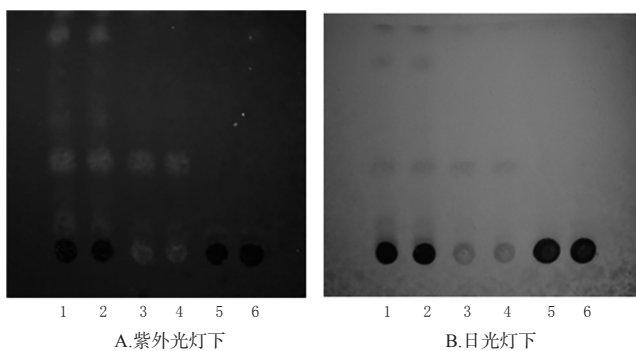
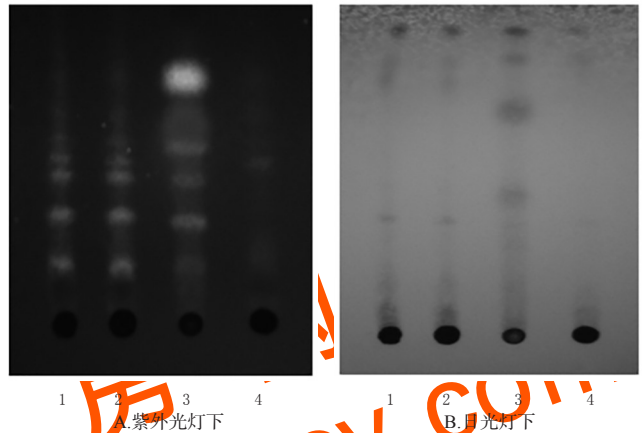


图1 水蛭的薄层色谱图

Fig 1 TLC chromatograms of Hirudo

注:1~2.供试品;3~4.对照药材;5~6.阴性对照
Note: 1-2. test samples; 3-4. reference substances; 5-6. negative control

2.1.2 苍术 取样品7.02g,加甲醇20mL,超声处理15min,滤过,取滤液作为供试品溶液。取苍术对照药材0.50g,按供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。按化痰无糖颗粒处方和工艺制备缺水苍术的阴性样品,并按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按2015年版《中国药典》(四部)TLC法^[10]试验,吸取上述3种溶液各10μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以石油醚(60~90℃)-丙酮(9:2,V/V)为展开剂,预饱和30min,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,在105℃加热15min,分别于紫外光灯(365nm)和日光灯下检视。结果,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰,详见图2。



注:1~2.供试品;3.对照药材;4.阴性对照

Note: 1-2. test samples; 3. reference substance; 4. negative control

图2 苍术的薄层色谱图

Fig 2 TLC chromatograms of *Atractylodes lancea*

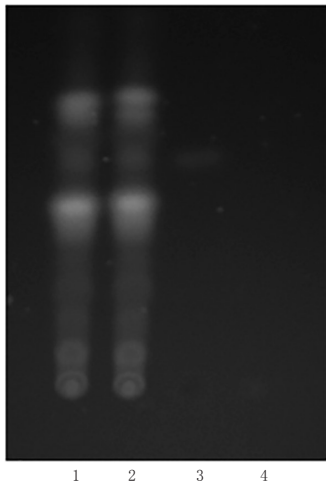
2.1.3 当归 取样品3.00g,加甲醇10mL,超声处理20min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇1mL使溶解,摇匀,作为供试品溶液。取阿魏酸对照品适量,加甲醇制成阿魏酸质量浓度为1mg/mL的对照品溶液。按化痰无糖颗粒处方和工艺制备缺水当归的阴性样品,并按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按2015年版《中国药典》(四部)TLC法^[10]试验,吸取上述3种溶液各10μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以环己烷-二氯甲烷-乙酸乙酯-甲酸(4:1:1:0.1,V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置于紫外光灯(365nm)下检视。结果,供试品色谱中,在与对照品色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰,详见图3。

2.2 人参皂苷R_g、Re的含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱:Phenomenex Luna C₁₈(250mm×4.6mm,5μm);流动相:乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B),梯度洗脱(0~35min,19%A;35~55min,19%A→29%A;55~70min,29%A;70~100min,29%A→40%A);流速:1.0mL/min;检测波长:203nm;柱温:25℃;进样量:10μL。

2.2.2 混合对照品溶液的制备 精密称取人参皂苷R_g对照品6.54mg、人参皂苷Re对照品2.38mg,置于25

mL量瓶中,加甲醇溶解并定容,摇匀,制成人参皂苷R_g₁、Re质量浓度分别为261.6、95.2 μg/mL的混合对照品溶液。



注:1~2.供试品;3.对照品;4.阴性对照

Note: 1-2. test samples; 3. reference substance; 4. negative control

图3 当归的薄层色谱图

Fig 3 TLC chromatograms of *Angelica sinensis*

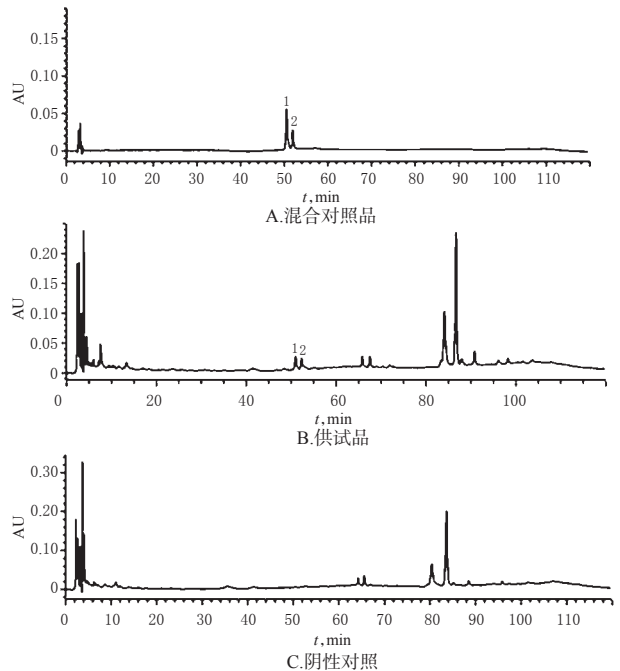
2.2.3 供试品溶液的制备 精密称取样品2.0 g,加入甲醇20 mL,称定质量,超声处理40 min,放至室温,再次称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液10 mL,蒸干,残渣加水10 mL溶解,用水饱和正丁醇萃取4次,每次20 mL,收集正丁醇液,用氨试液充分洗涤2次,每次40 mL,弃去氨试液层,取正丁醇液层,蒸干,残渣用甲醇溶解,移置于5 mL量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得。

2.2.4 阴性对照溶液的制备 按化癍无糖颗粒处方和工艺制备缺人参的阴性样品,并按“2.2.3”项下方法制成阴性对照溶液。

2.2.5 系统适用性试验 取上述混合对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各适量,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图,详见图4。结果,理论板数按人参皂苷R_g₁、Re峰计均不低于3 000;基线分离良好,分离度均大于1.5。

2.2.6 线性关系考察 分别精密称取人参皂苷R_g₁、Re对照品各适量,用甲醇制成人参皂苷R_g₁质量浓度分别为16.3、32.7、65.4、130.8、261.6 μg/mL,人参皂苷Re质量浓度分别为5.9、11.9、23.8、47.6、95.2 μg/mL的系列单一对照品溶液。精密量取上述系列单一对照品溶液各10 μL,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。分别以人参皂苷R_g₁、Re质量浓度(x, μg/mL)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,回归方程与线性范围见表1。

2.2.7 定量限与检测限考察 分别精密量取“2.2.2”项下混合对照品溶液适量,倍比稀释,并按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,以信噪比10:1、3:1分别计算人参皂苷R_g₁、Re的定量限、检测限,结果见表1。



注:1.人参皂苷R_g₁;2.人参皂苷Re

Note: 1. ginsenoside R_g₁; 2. ginsenoside Re

图4 人参皂苷R_g₁、Re的高效液相色谱图

Fig 4 HPLC chromatograms of ginsenoside R_g₁ and ginsenoside Re

表1 回归方程、线性范围与定量限、检测限

Tab 1 Regression equations, linear ranges and quantitation limits, detection limits

检测成分	回归方程	r	线性范围, μg/mL	定量限, μg/mL	检测限, μg/mL
人参皂苷R _g ₁	y=5 835.7x+6 461.6	0.999 9	16.3~261.6	16.3	2.68
人参皂苷Re	y=6 339.8x-4 938.4	0.999 8	5.9~95.2	5.9	1.74
落新妇苷	y=21 056x-33 781	0.999 6	3.2~51.2	3.2	1.09

2.2.8 精密度的试验 取“2.2.2”项下混合对照品溶液适量,按“2.2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,人参皂苷R_g₁、Re峰面积的RSD分别为1.84%、1.28%(n=6),表明仪器精密度良好。

2.2.9 稳定性试验 取“2.2.3”项下供试品溶液(批号:20120520)适量,分别于室温下放置0、2、4、8、12、16、24 h时按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,人参皂苷R_g₁、Re峰面积的RSD分别为1.71%、1.86%(n=7),表明供试品溶液在室温下放置24 h内基本稳定。

2.2.10 重复性试验 精密称取样品(批号:20120520)适量,共6份,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,人参皂苷R_g₁、Re峰面积的RSD分别为1.90%、2.03%(n=6),表明本方法重复性良好。

2.2.11 加样回收率试验 取已知含量样品(批号:20120520)适量,共6份,分别加入一定质量浓度的待测成分对照品溶液各适量,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积

并计算加样回收率,结果见表2。

表2 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 2 Results of recovery tests(n=6)

待测成分	取样量, g	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
人参皂苷R _g	0.999 6	0.209 0	0.220	0.427 1	99.14	99.08	1.66
	0.989 8	0.208 4	0.220	0.430 6	101.00		
	0.997 4	0.208 9	0.220	0.427 2	99.22		
	0.998 7	0.208 9	0.220	0.428 1	99.62		
	1.000 5	0.209 0	0.220	0.427 9	99.51		
	1.000 1	0.209 0	0.220	0.420 2	96.02		
人参皂苷R _e	1.999 6	0.238 4	0.204	0.443 4	100.50	99.38	0.98
	1.989 8	0.237 2	0.204	0.437 2	98.04		
	1.997 4	0.238 1	0.204	0.439 1	98.55		
	1.998 7	0.238 2	0.204	0.440 7	99.25		
	2.000 5	0.238 5	0.204	0.441 7	99.61		
	2.000 1	0.238 4	0.204	0.443 1	100.34		
落新妇苷	0.999 8	0.928 2	0.640	31.440 7	100.55	97.23	2.41
	0.999 6	0.928 0	0.640	30.999 2	97.10		
	1.000 2	0.928 6	0.640	30.765 7	95.28		
	1.000 1	0.928 5	0.640	31.017 5	97.25		
	0.999 7	0.928 1	0.640	30.625 2	94.18		
	1.000 1	0.928 5	0.640	31.245 8	99.03		

2.2.12 耐用性试验 精密称取样品(批号:20120504)适量,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,考察不同色谱柱以及一定范围内的流速、柱温变化对样品含量测定结果的影响,结果见表3。结果表明,色谱柱、流速、柱温发生一定程度变化时,本方法能满足试验要求,耐用性良好。

表3 耐用性试验结果

Tab 3 Results of durability tests

色谱条件	设置	人参皂苷R _g			人参皂苷R _e			落新妇苷		
		含量, mg/g	平均含量, mg/g	RSD, %	含量, mg/g	平均含量, mg/g	RSD, %	含量, mg/g	平均含量, mg/g	RSD, %
色谱柱	Phenomenex Luna C ₁₈	0.234 4	0.238 5	1.60	0.116 9	0.118 2	1.03	0.742 1	0.748 1	0.79
	Zorbax Eclipse XDB C ₁₈	0.229 4			0.118 4			0.748 2		
	Diamond C ₁₈	0.236 7			0.119 3			0.753 9		
流速	0.5 mL/min	0.242 6	0.238 1	1.85	0.109 7	0.113 0	2.84	0.754 1	0.748 7	1.20
	1.0 mL/min	0.237 9			0.113 2			0.738 3		
	1.5 mL/min	0.233 8			0.116 1			0.753 6		
柱温	20 °C	0.236 7	0.235 5	2.36	0.114 2	0.117 8	2.79	0.742 0	0.743 2	0.83
	25 °C	0.240 3			0.118 7			0.739 2		
	30 °C	0.229 4			0.120 6			0.750 3		

2.2.13 样品中人参皂苷R_g₁、R_e含量测定 取3批样品各适量,分别按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,平行测定3次,记录峰面积并计算样品中人参皂苷R_g₁、R_e含量,结果见表4。

表4 样品含量测定结果(n=3, mg/g)

Tab 4 Results of contents determination of samples (n=3, mg/g)

批号	人参皂苷R _g		人参皂苷R _e		落新妇苷	
	含量	平均值	含量	平均值	含量	平均值
20120504	0.238 4		0.109 0		0.737 1	
20120520	0.230 1	0.239 0	0.120 1	0.114 6	0.749 7	0.747 0
20120524	0.248 5		0.114 7		0.754 2	

2.3 落新妇苷的含量测定

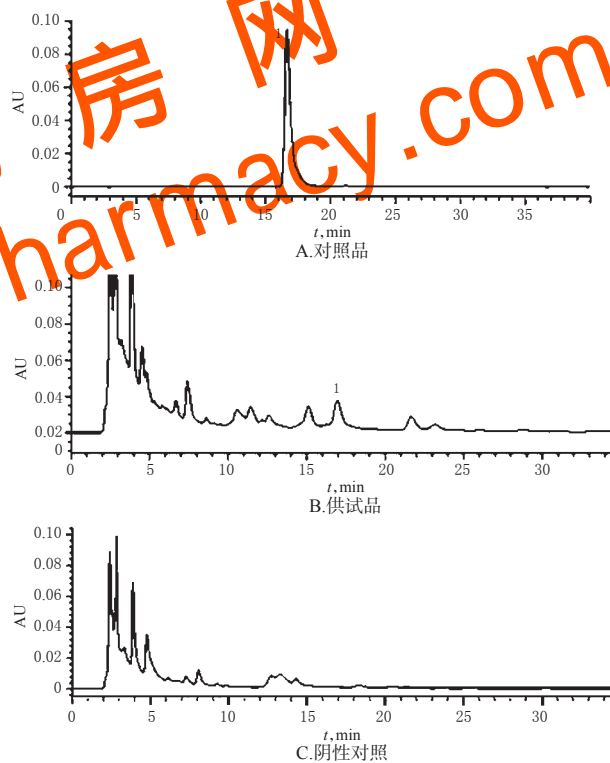
2.3.1 色谱条件 色谱柱: Phenomenex Luna C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.1% 冰醋酸溶液 (37:63, V/V); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 291 nm; 柱温: 25 °C; 进样量: 10 μL。

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称取落新妇苷对照品6.40 mg, 置于25 mL量瓶中, 加甲醇溶解并定容, 摇匀, 制成落新妇苷质量浓度为256.0 μg/mL的对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 精密称取样品1.02 g, 置于干燥的具塞三角瓶中, 精密加甲醇25 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理40 min, 放至室温, 再次称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.3.4 阴性对照溶液的制备 按化痰无糖颗粒处方和工艺制备缺土茯苓的阴性样品, 并按“2.3.3”项下方法制成阴性对照溶液。

2.3.5 系统适用性试验 取上述对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各适量, 按“2.3.1”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图, 详见图5。结果, 理论板数按落新妇苷峰计均不低于3 000; 基线分离良好, 分离度均大于1.5。



注: 1. 落新妇苷
Note: 1. astilbin

图5 落新妇苷的高效液相色谱图

Fig 5 HPLC chromatograms of astilbin

2.3.6 线性关系考察 精密量取“2.3.2”项下落新妇苷对照品溶液适量, 加甲醇制成质量浓度分别为3.2、6.4、12.8、25.6、51.2 μg/mL的系列对照品溶液。精密量取上述系列对照品溶液各10 μL, 按“2.3.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。以落新妇苷质量浓度(x, μg/mL)

为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,回归方程与线性范围见表1。

2.3.7 定量限与检测限考察 分别精密量取“2.3.2”项下对照品溶液适量,倍比稀释,并按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,以信噪比10:1、3:1分别计算落新妇苷的定量限、检测限,结果见表1。

2.3.8 精密度试验 取“2.3.2”项下对照品溶液适量,按“2.3.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,落新妇苷峰面积的RSD为1.00%(n=6),表明仪器精密度良好。

2.3.9 稳定性试验 取“2.3.3”项下供试品溶液(批号:20120520)适量,分别于室温下放置0、2、4、8、12、16、24 h时按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,落新妇苷峰面积的RSD为2.79%(n=7),表明供试品溶液在室温下放置24 h内基本稳定。

2.3.10 重复性试验 精密称取样品(批号:20120520)适量,共6份,按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,落新妇苷峰面积的RSD为2.35%(n=6),表明本方法重复性良好。

2.3.11 加样回收率试验 取已知含量样品(批号:20120520)适量,共6份,分别加入一定质量浓度的待测成分对照品溶液适量,按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表2。

2.3.12 耐用性试验 按“2.2.12”项下方法操作,考察耐用性,结果见表3。结果表明,色谱柱、流速、柱温发生一定程度变化时,本方法能满足试验要求,耐用性良好。

2.3.13 样品中落新妇苷含量测定 取3批样品各适量,分别按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,平行测定3次,记录峰面积并计算样品中落新妇苷含量,结果见表4。

3 讨论

笔者最初对当归进行鉴别时采用醇提法提取制备供试品溶液,结果供试品色谱中在与对照品色谱相应位置上未检出清晰斑点,而采用超声法提取制备供试品溶液后可检出清晰斑点。

在进行含量测定时,笔者考虑到君药人参以原粉入药未经提取,其指标成分含量可能偏低,且仅测人参指标成分恐无法全面反映提取工艺对该制剂质量的影响,故进一步对臣药有效成份含量测定进行了专属性考察。结果显示,蒲公英^[11]、漏芦^[12]有效成分含量测定的专属性较差,而土茯苓^[13]有效成分含量测定的专属性较好,故确定采用HPLC法测定该制剂君药人参中人参皂苷R_g₁、R_e和臣药土茯苓中落新妇苷的含量。

笔者查阅2015年版《中国药典》(四部)和文献报

道^[10,14],对比了不同体积分数甲醇对该制剂中落新妇苷提取率的影响,发现较小体积分数甲醇提取液黏性较大,不易滤过,提取效率低,可能与较小体积分数甲醇提取出的淀粉等大分子杂质较多有关^[15],而以纯甲醇提取,效率较高,故最终选定纯甲醇作为提取溶剂。

全波长扫描结果显示,人参皂苷R_g₁、R_e在203 nm波长处有最大吸收,落新妇苷在291 nm波长处有最大吸收,故分别选择203、291 nm作为检测波长。在测定样品中落新妇苷含量时,笔者曾对不同比例的甲醇-水、甲醇-0.1%冰醋酸溶液作流动相时的基线与分离情况进行比较,发现流动相为甲醇-0.1%冰醋酸溶液(37:63, V/V)时基线平稳,落新妇苷峰与其余峰分离度较好,且加入0.1%冰醋酸溶液后峰拖尾现象明显改善。

综上,本研究所建标准全面可行,可用于化癍无糖颗粒的质量控制。

参考文献

- [1] 刘向红,陈金娜.化癍无糖颗粒制备工艺的筛选[J].山东医药,2012,56(46):84-86.
- [2] 石楸鸣.人参皂苷的药理作用研究进展[J].中国药房,2010,21(31):2967-2969.
- [3] 王建平,张海燕,傅旭春.土茯苓的化学成分和药理作用研究进展[J].海峡药学,2013,25(1):42-44.
- [4] 季漪,李柳,吴勉华.水蛭抗肿瘤作用机制研究进展[J].中国中医药信息杂志,2015,22(3):131-133.
- [5] 邓爱平,李颖,吴志涛,等.苍术化学成分和药理的研究进展[J].中国中药杂志,2016,41(21):3904-3913.
- [6] 李曦,张丽宏,王晓晓,等.当归化学成分及药理作用研究进展[J].中药材,2013,36(6):1023-1028.
- [7] 巩伟,赵豫,赵庆华,等.十一味参龙口服液的质量标准研究[J].中国药房,2014,25(35):3323-3327.
- [8] 曲琰,贾天柱.HPLC法测定椴制人参中人参皂苷R_g₁、R_e、R_b和椴子苷的含量[J].中国药房,2016,27(24):3449-3452.
- [9] 张永贵,赵力,杨小英.土茯苓药材HPLC指纹图谱研究及主成分的含量测定[J].中国药房,2016,27(36):5143-5146.
- [10] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:57.
- [11] 李超,董自波,蒋金来,等.HPLC法测定蒲公英中菊苷酸、咖啡酸与绿原酸[J].中草药,2015,46(23):3577-3580.
- [12] 杨美珍,王晓琴,刘勇,等.祁州漏芦化学成分与药理活性研究[J].中药材,2015,38(3):611-618.
- [13] 白梅,刘为萍,李素珍.HPLC测定不同产地土茯苓中落新妇苷和黄杞苷含量[J].药物分析杂志,2013,33(8):1352-1354.
- [14] 代能捷,杨全伟,程璐,等.高效液相色谱法测定痛风颗

ICP-MS法同时测定益中生血片中12种微量元素的含量^Δ

高连丛^{1*},李淑芳²,马莹慧¹,韩柳^{1,2#}(1.吉林医药学院药学院,吉林吉林 132013;2.吉林华康药业股份有限公司,吉林敦化 133700)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)22-3088-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.22.14

摘要 目的:建立同时测定益中生血片中12种微量元素含量的方法。方法:采用电感耦合等离子体质谱法。射频功率为1 350 W,等离子体气流量为15.0 L/min,载气流量为1.12 L/min,氧化物指标(氧化铈离子/铈) $<0.5\%$,双电荷指标(二价钡离子/一价钡离子) $<1\%$,积分时间为0.1 s,雾化器为高盐雾化器,雾化室温度为2 ℃,重复次数为3次,蠕动泵转速分辨率为0.1 rps,采样深度为7.0 mm,微波消解功率为3 600 W,升温程序为190 ℃保持48 h,冷却至室温,再升温至150 ℃,保持12 h。结果:硼、钒、铬、锰、钴、镍、铜、锌、硒、铷、钼、锡元素检测质量浓度线性范围分别为0.05~150 μg/L($r=0.999\ 8$)、0.05~150 μg/L($r=0.999\ 7$)、0.05~150 μg/L($r=0.999\ 5$)、0.05~150 μg/L($r=0.999\ 6$)、0.05~150 μg/L($r=0.999\ 7$)、0.05~150 μg/L($r=0.999\ 8$)、0.05~150 μg/L($r=0.999\ 6$)、0.05~150 μg/L($r=0.999\ 8$)、0.05~150 μg/L($r=0.999\ 5$)、0.05~150 μg/L($r=0.999\ 9$)、0.05~150 μg/L($r=0.999\ 6$)、0.05~150 μg/L($r=0.999\ 7$);定量限分别为0.017、0.007、0.021、0.042、0.013、0.017、0.018、0.019、0.020、0.011、0.011、0.018 μg/L,检测限分别为0.005、0.002、0.007、0.011、0.003、0.005、0.004、0.004、0.006、0.003、0.003、0.005 μg/L;精密性、稳定性、重复性试验的RSD均小于6%;加样回收率为95.138%~104.928%(RSD为0.96%~2.97%, $n=9$);平均含量分别为5.266、0.453、1.581、170.600、11.280、5.204、1.560、24.300、0.987、7.302、0.239、0.702 μg/g。结论:该方法快速、灵敏度高、准确度高,可用于同时测定益中生血片中12种微量元素的含量;益中生血片样品中Mn、Zn、Co、Rb、B元素的含量相对较高。

关键词 益中生血片;电感耦合等离子体质谱法;微量元素;含量测定

Simultaneous Determination of 12 Kinds of Microelements in Yizhong Shengxue Tablets by ICP-MS
GAO Liancong¹, LI Shufang², MA Yinghui¹, HAN Liu^{1,2} (1. School of Pharmacy, Jilin Medical College, Jilin Jilin 132013, China; 2. Jilin Huakang Pharmaceutical Co., Ltd., Jilin Dunhua 133700, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of 12 kinds of microelements in Yizhong shengxue tablets. METHODS: ICP-MS method was adopted. Rf power was set at 1 350 W; plasma gas velocity was 15.0 L/min and carrier gas velocity was 1.12 L/min; the oxide index (CeO⁺/Ce) was less than 0.5%, and the double charge index (Ba²⁺/Ba⁺) was less than 1%; the integration time was 0.1 s, high salt atomizer was used, which atomizing chamber temperature was 2 ℃; repetition times was 3 times; the peristaltic pump frequency was 0.1 rps and the sampling depth was 7.0 mm. The microwave digestion power was 3 600 W and the heating process was heated to 190 ℃ maintaining for 48 h, and then cooled to room temperature, finally heated to 150 ℃ maintaining for 12 h. RESULTS: The linear range of B, V, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Se, Rb, Mo and Sn were 0.05-150 μg/L($r=0.999\ 8$), 0.05-150 μg/L($r=0.999\ 7$), 0.05-150 μg/L($r=0.999\ 5$), 0.05-150 μg/L($r=0.999\ 6$), 0.05-150 μg/L($r=0.999\ 7$), 0.05-150 μg/L($r=0.999\ 8$), 0.05-150 μg/L($r=0.999\ 6$), 0.05-150 μg/L($r=0.999\ 8$), 0.05-150 μg/L($r=0.999\ 5$), 0.05-150 μg/L($r=0.999\ 9$), 0.05-150 μg/L($r=0.999\ 6$), 0.05-150 μg/L($r=0.999\ 7$), respectively. The limits of quantitation were 0.017, 0.007, 0.021, 0.042, 0.013, 0.017, 0.018, 0.019, 0.020, 0.011, 0.011, 0.018 μg/L; the limits of detection were 0.005, 0.002, 0.007, 0.011, 0.003, 0.005, 0.004, 0.004, 0.006, 0.003, 0.003, 0.005 μg/L, respectively. RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 6%. The recoveries were 95.138%-104.928% (RSDs were 0.96%-2.97%, $n=9$). Average contents of 12 kinds of microelements were 5.266, 0.453, 1.581, 170.600, 11.280, 5.204, 1.560, 24.300, 0.987, 7.302, 0.239 and 0.702 μg/g. CONCLUSIONS: Established method is rapid, sensitive and accurate for simultaneous determination of 12 kinds of microelements in Yizhong shengxue tablets. The contents of Mn, Zn, Co, Rb and B in Yizhong shengxue tablets were relatively high.

KEYWORDS Yizhong shengxue tablets; ICP-MS; Microelement; Content determination

粒中落新妇苷的含量[J]. 中国医院用药评价与分析,

2016,16(9):1232-1234.

^Δ 基金项目:吉林省科技发展计划项目(No.20170520040JH)

[15] 杜松,罗爱勤,刘美凤. 中药浸膏醇沉工艺中醇浓度概念与计算方法辨析[J]. 中草药,2012,43(8):1652-1655.

* 助理实验师。研究方向:激光医学。电话:0432-64561053。

(收稿日期:2018-08-10 修回日期:2018-10-06)

E-mail:864776051@qq.com

(编辑:张 静)

通信作者:讲师,博士。研究方向:天然药物化学成分及活性。

电话:0432-64560532。E-mail:hanliu13@mails.jlu.edu.cn