

# 胃瘤安合剂的质量标准研究

陆超<sup>1,2\*</sup>, 吴磊<sup>1</sup>, 钱芳<sup>1</sup>, 刘志辉<sup>1#</sup>(1.南京中医药大学附属医院, 南京 210029; 2.南京中医药大学药学院, 南京 210046)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)03-0396-04  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.03.35

**摘要** 目的:建立胃瘤安合剂的质量标准。方法:采用薄层色谱法对胃瘤安合剂中的炙黄芪、陈皮、当归、莪术进行定性鉴别;采用高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定制剂中黄芪甲苷的含量。色谱柱为Hedera C<sub>18</sub> ODS-2,流动相为乙腈-水(32:68, V/V),流速为1.0 ml/min,柱温为30 ℃,进样量为20 μl,ELSD漂移管温度为103 ℃,载气流量为2.8 L/min。结果:TLC斑点清晰,分离良好。黄芪甲苷的进样量在1.782~28.500 μg范围内与其峰面积积分值的自然对数值呈良好线性关系( $r=0.999\ 2$ );精密度的RSD<2%,重复性、稳定性试验的RSD<3%;平均加样回收率为91.59%,RSD=2.07%( $n=6$ )。结论:该方法简便、准确、灵敏度高,可用于胃瘤安合剂的质量控制。

**关键词** 胃瘤安合剂;薄层色谱法;高效液相色谱法;质量标准;黄芪甲苷

## Study on Quality Standard of Weiliuan Mixtures

LU Chao<sup>1,2</sup>, WU Lei<sup>1</sup>, QIAN Fang<sup>1</sup>, LIU Zhi-hui<sup>1</sup>(1.The Affiliated Hospital of Nanjing University of TCM, Nanjing 210029, China; 2.College of Pharmacy, Nanjing University of TCM, Nanjing 210046, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the quality standard for Weiliuan mixture. METHODS: Honey-fried *Astragalus membranaceus*, *Citrus reticulata*, *Angelica sinensis* and *Curcuma zedoaria* were qualitatively identified by TLC. The content of astragaloside IV was determined by HPLC-ELSD. The determination was performed on Hedera C<sub>18</sub> ODS-2 column with mobile phase consisted of acetonitrile-water(32:68, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The column temperature was set at 30 ℃, and sample size was 20 μl. The drift tube temperature of ELSD was 103 ℃, and carrier flow was 2.8 L/min. RESULTS: TLC spots were clear and well-separated. The linear range of astragaloside IV was 1.782-28.500 μg ( $r=0.999\ 2, n=5$ ) with an average recovery of 91.59% (RSD=2.07%,  $n=6$ ). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and sensitive, and can be used for the quality control of Weiliuan mixtures.

**KEYWORDS** Weiliuan mixtures; TLC; HPLC; Quality standard; Astragaloside IV

胃瘤安合剂由炙黄芪、党参、炒白术、茯苓等15味中药组成,具有益气健脾、行气和胃、解毒散结的功效,临床常用于减轻胃癌术后化疗的副反应,如胃痛胃胀、泛酸暖气、食欲不振、腹泻、呕吐、乏力等。本研究采用薄层色谱(TLC)法对该制剂中的炙黄芪、陈皮、当归、莪术进行定性鉴别,并采用高效液相色谱-蒸发光散射检测器(HPLC-ELSD)法对方中君药炙黄芪的主要成分黄芪甲苷<sup>[1-4]</sup>进行含量测定,以为建立胃瘤安合剂的质量控制标准提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

2695型HPLC仪(美国Waters公司);2000型ELSD器(美国Alltech公司);XWK-III型无油空气泵(天津市毕生分析仪器厂);BP-211D型电子分析天平(德国赛多利斯公司);硅胶G(青岛海洋化工厂)。

### 1.2 药品与试剂

胃瘤安合剂(江苏省中医院自制,批号:110920、110921、110922,规格:100 ml/瓶);黄芪甲苷对照品、阿魏酸对照品、陈皮对照药材、莪术对照药材(中国食品药品检定研究院,批号:

110781-201213、110773-200611、120969-200808、121304-20002);乙腈、甲醇为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 TLC鉴别

2.1.1 炙黄芪的TLC鉴别<sup>[5-6]</sup> 取本品40 ml,以水饱和的正丁醇溶液振荡提取4次,每次40 ml,合并正丁醇液,用氨试液充分洗涤2次,每次40 ml,弃去氨液;将正丁醇液蒸干,残渣加甲醇1 ml使溶解,作为供试品溶液。另取黄芪甲苷对照品适量,加甲醇制成每1 ml含0.5 mg的溶液,作为黄芪甲苷对照品溶液。按处方量称取不含炙黄芪的其他饮片各适量,照上述供试品溶液的制备方法制成缺乏黄芪的阴性样品溶液。照TLC法[2010年版《中国药典》(一部)附录VI B]试验,吸取上述3种溶液各10 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-水(13:7:2, V/V/V)的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,于105 ℃加热至斑点显色清晰,置日光下检视。结果供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰。炙黄芪的TLC图见图1。

2.1.2 陈皮的TLC鉴别<sup>[7]</sup> 取本品60 ml,用乙酸乙酯振荡提取两次,每次30 ml,合并乙酸乙酯液,蒸干,残渣加甲醇1 ml使溶解,作为供试品溶液。另取陈皮对照药材0.5 g,加甲醇10 ml,加热回流提取20 min,滤过,取滤液5 ml,浓缩至1 ml,

\* 主管中药师。研究方向:中药制剂质量控制研究。电话:025-86529291。E-mail:sinkly228@126.com

# 通信作者:主任中药师,硕士生导师。研究方向:中药制剂开发、中药质量标准。E-mail:liuzh1008@126.com

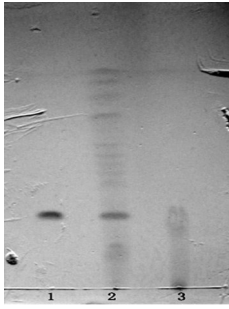


图1 炙黄芪的TLC图

1.黄芪甲苷对照品;2.供试品;3.缺炙黄芪的阴性样品

Fig 1 TLC chromatogram of honey-field *Astragali Radix Preparata*

1. astragaloside IV control; 2. test sample; 3. negative sample without honey-field *Astragali Radix Preparata*

作为对照药材溶液。按处方量称取不含陈皮的其他饮片各适量,照上述供试品溶液的制备方法制成缺陈皮的阴性样品溶液。照TLC法[2010年版《中国药典》(一部)附录VIB]试验,吸取对照药材溶液2 μl、供试品溶液和阴性样品溶液各10 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以乙酸乙酯-甲醇-水(100:17:13, V/V/V)为展开剂,展开约5 cm,取出,晾干;再以甲苯-乙酸乙酯-甲酸-水(20:10:1:1, V/V/V)的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以三氯化铝试液,105 °C加热至斑点显色清晰,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,阴性无干扰。陈皮的TLC图见图2。

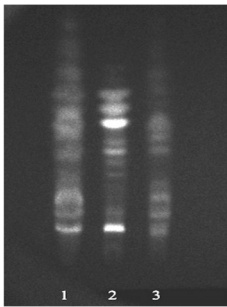


图2 陈皮的TLC图

1.供试品;2.陈皮对照药材;3.缺陈皮的阴性样品

Fig 2 TLC chromatogram of *Citrus reticulatae*

1. test sample; 2. Citri Reticulatae Pericarpium materials substance; 3. negative sample without *Citrus reticulatae* Pericarpium

2.1.3 当归的TLC鉴别<sup>[9]</sup> 取本品100 ml,用稀盐酸调pH至1~2,用乙醚振摇提取2次,每次30 ml,合并乙醚液,挥干,残渣加甲醇1 ml使溶解,作为供试品溶液。另取阿魏酸对照品适量,加甲醇制成每1 ml含1 mg的溶液,作为阿魏酸对照品溶液。按处方量称取不含当归的其他饮片各适量,按上述供试品溶液的制备方法制成缺当归的阴性样品溶液。照TLC法[2010年版《中国药典》(一部)附录VIB]试验,吸取上述3种溶液各10 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(4:1:0.2, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,阴性对照无干扰。当归的TLC图见图3。

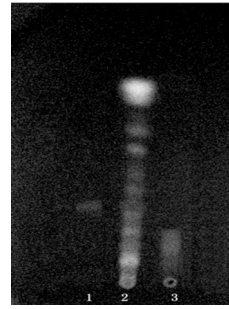


图3 当归的TLC图

1.供试品;2.阿魏酸对照品;3.缺当归的阴性样品

Fig 3 TLC chromatogram of *Angelica sinensis*

1. test sample; 2. ferulic acid control; 3. negative sample without *Angelica sinensis*

2.1.4 莪术的TLC鉴别<sup>[9]</sup> 取本品60 ml,用石油醚(30~60 °C)振摇提取2次,每次40 ml,合并石油醚液,挥干溶剂,残渣加无水乙醇1 ml使溶解,作为供试品溶液。另取莪术对照药材0.5 g,加石油醚(30~60 °C)10 ml,超声处理5 min,滤过,滤液挥干,残渣加无水乙醇1 ml使溶解,作为莪术对照药材溶液。按处方量称取不含莪术的其他饮片各适量,按上述供试品溶液的制备方法制成缺莪术的阴性样品溶液。照TLC法[2010年版《中国药典》(一部)附录VIB]试验,吸取对照药材溶液10 μl、供试品溶液和阴性样品溶液各20 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以石油醚(30~60 °C)-丙酮-乙酸乙酯(94:5:1, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以1%香草醛硫酸溶液,105 °C加热至斑点显色清晰。结果供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰。莪术的TLC图见图4。

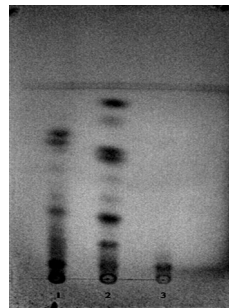


图4 莪术的TLC图

1.供试品;2.莪术对照药材;3.缺莪术的阴性样品

Fig 4 TLC chromatogram of *Curcuma rhizoma*

1. test sample; 2. Curcuma Phaeocaulis reference substance; 3. negative sample without *Curcuma rhizoma*

## 2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱: Hederac<sub>18</sub> ODS-2 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水(32:68, V/V); 流速: 1.0 ml/min; 柱温: 30 °C; 进样量: 20 μl。ELSD 漂移管温度: 103 °C; 载气流速: 2.8 L/min<sup>[10]</sup>。

2.2.2 对照品溶液的制备 取五氧化二磷减压干燥24 h的黄芪甲苷对照品适量,精密称定,置于量瓶中,加甲醇制成每1 ml含1.425 mg的溶液,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品40 ml,用水饱和的正丁醇溶液振摇提取4次,每次40 ml,合并正丁醇液,用氨试液充分

洗涤2次,每次40 ml,弃去氨液。正丁醇液蒸干,残渣加甲醇溶解,置于5 ml量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,经0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2.4 阴性样品溶液的制备 取缺炙黄芪的阴性样品适量,按“2.2.3”项下方法制成阴性样品溶液,即得。

2.2.5 系统适用性试验 取上述对照品溶液、供试品溶液及阴性样品溶液各20 μl,分别按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果,色谱峰基线平稳,供试品溶液与其他组分分离度良好,阴性无干扰;理论板数按黄芪甲苷峰计算应不低于5 000。色谱见图5。

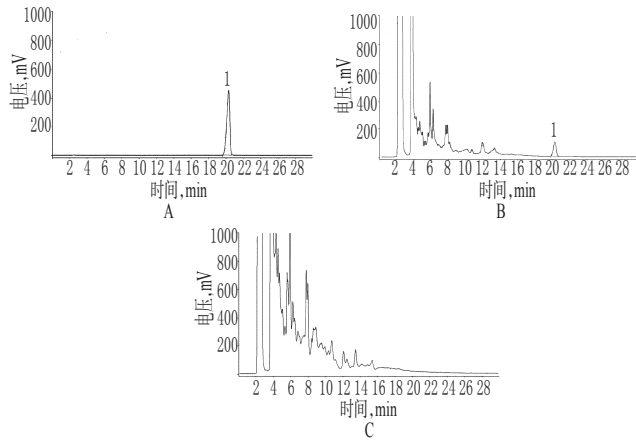


图5 黄芪甲苷的高效液相色谱-蒸发光散射检测图

A.黄芪甲苷对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.黄芪甲苷

Fig 5 HPLC-ELSD chromatograms of astragaloside IV

A. astragaloside IV reference substance; B. test sample; C. negative sample; 1. astragaloside IV

2.2.6 线性关系考察 精密量取“2.2.2”项下的黄芪甲苷对照品溶液适量,加甲醇依次稀释成质量浓度分别为0.712 5、0.356 3、0.178 0、0.089 1 mg/ml的溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以进样量(x, μg)为横坐标、峰面积的自然对数值(y)为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程为 $y=1.627 5x+12.033(r=0.999 2)$ 。结果表明,黄芪甲苷的进样量在1.782~28.500 μg范围内与其峰面积积分值的自然对数值呈良好线性关系。

2.2.7 精密度试验 精密吸取“2.2.6”项下质量浓度为0.356 3 mg/ml的黄芪甲苷对照品溶液20 μl,按“2.2.1”项下色谱条件重复进样6次,记录峰面积。结果,黄芪甲苷峰面积的RSD为0.77%,表明仪器精密度良好。

2.2.8 稳定性试验 取同一供试品溶液适量,分别于制备0、2、4、6、8、12 h时,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,黄芪甲苷峰面积的RSD为1.54%,表明供试品溶液在12 h内稳定性良好。

2.2.9 重复性试验 取同一批次(批号:110921)的胃瘤安合剂40 ml,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,计算峰面积,并计算样品含量。结果,黄芪甲苷的平均含量为0.040 mg/ml, RSD为2.93%,表明本方法重复性良好。

2.2.10 加样回收率试验 精密量取已知黄芪甲苷质量浓度(0.040 mg/ml)的胃瘤安合剂(批号:110921)20 ml,共6份,分别置于具塞锥形瓶中,精密加入黄芪甲苷对照品溶液(0.406 2

mg/ml)2 ml,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,计算峰面积,并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 1 Results of recovery tests(n=6)

取样量,ml	已知含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
20	0.80	0.812 4	1.545 8	91.80		
20	0.80	0.812 4	1.552 3	92.60		
20	0.80	0.812 4	1.508 5	87.21	91.59	2.07
20	0.80	0.812 4	1.536 9	90.71		
20	0.80	0.812 4	1.532 6	90.18		
20	0.80	0.812 4	1.544 1	91.59		

2.2.11 样品含量测定 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,计算样品含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果(n=3,mg/ml)

Tab 2 Results of content determination of samples(n=3, mg/ml)

批号	黄芪甲苷质量浓度	平均质量浓度
110920	0.039	0.039
	0.040	
	0.038	
110921	0.039	0.040
	0.040	
	0.040	
110922	0.037	0.038
	0.040	
	0.038	

### 3 讨论

炙黄芪为方中君药,而黄芪甲苷是黄芪中主要活性指标成分,可作为胃瘤安合剂中的质量评价指标。由于黄芪甲苷在202 nm波长处有末端吸收,因此不宜选择紫外检测器测定其含量。目前,文献报道<sup>[1]</sup>多采用ELSD法检测含黄芪复方制剂中黄芪甲苷的含量,该检测器不受流动相光谱本身的干扰,分离效果好。2010年版《中国药典》亦采用此法测定黄芪饮片黄芪甲苷的含量<sup>[9]</sup>。本品为复方制剂,成分复杂,以水饱和的正丁醇提取再用氨试液洗涤,可除去提取液中色素成分的干扰。

笔者曾比较了水饱和的正丁醇提取次数(3~6次)对黄芪甲苷含量的影响,结果测得黄芪甲苷的质量浓度分别为0.031、0.040、0.042、0.430 mg/ml,表明提取3次与4次的含量差异较大,而提取4次与5、6次的含量差异不大,黄芪甲苷的含量递增不明显。为了可以提取完全,且能够节约试验资源,故本研究选择以水饱和的正丁醇溶液提取4次作为供试品的提取方法。

综上所述,该方法简单、准确、灵敏度高,可用于胃瘤安合剂的质量控制。

### 参考文献

- [1] 李丹.高效液相色谱蒸发光散射检测法测定芪麦益气口服液黄芪甲苷的含量[J].医药导报,2010,29(7):941.
- [2] 涂兴明,李赐恩,吴康郁.高效液相色谱-蒸发光检测法测定伤骨健胶囊中黄芪甲苷的含量[J].中药材,2010,33(6):999.
- [3] 王红霞,王蕾.HPLC-ELSD法测定利肝隆颗粒中黄芪甲苷的含量[J].中国药房,2011,22(44):4 208.

# HPLC法同时测定环孢素注射液的含量和有关物质

庞文哲\*, 宋更申, 王茉莉(河北省药品检验研究院, 石家庄 050000)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)03-0399-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.03.36

**摘要** 目的:建立同时测定环孢素注射液含量和有关物质的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Merck Hibar® C<sub>18</sub>,流动相为四氢呋喃-0.05 mol/L磷酸溶液(45:55, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为220 nm,柱温为75 ℃,进样量为10 μl。结果:环孢素C、环孢素B、环孢素、环孢素G、环孢素H、异环孢素H、异环孢素A质量浓度分别在1.95~195.00、2.03~203.00、0.25~9.90、1.83~182.80、1.26~125.80、1.81~180.80、2.02~202.40 μg/ml范围内与各自峰面积积分值呈良好线性关系( $r=0.999\ 9$ 、 $0.999\ 9$ 、 $0.999\ 9$ 、 $0.999\ 9$ 、 $0.999\ 9$ 、 $0.999\ 8$ 、 $0.999\ 9$ );精密性、稳定性、重复性试验的RSD≤0.3%;环孢素平均回收率为99.94%,RSD=0.10%( $n=3$ )。结论:本方法准确、可靠、灵敏度高、专属性强,可用于环孢素注射液的质量控制。

**关键词** 环孢素;含量测定;有关物质;高效液相色谱法

## Simultaneous Determination of the Content and Related Substances of Cyclosporin Injection by HPLC

PANG Wen-zhe, SONG Geng-shen, WANG Mo-li(Hebei Institute for Drug Control, Shijiazhuang 050000, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the method for the determination of content and related substances of Cyclosporin injection. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Merck Hibar® C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of tetrahydrofuran-0.05 mol/L phosphate (45:55, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 220 nm and column temperature was 75 ℃. The injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear range were 1.95-195.00 μg/ml for cyclosporine C( $r=0.999\ 9$ ), 2.03-203.00 μg/ml for cyclosporine B( $r=0.999\ 9$ ), 0.25-9.90 μg/ml for cyclosporine( $r=0.999\ 9$ ), 1.83-182.80 μg/ml for cyclosporine G( $r=0.999\ 9$ ), 1.26-125.80 μg/ml for cyclosporine H( $r=0.999\ 9$ ), 1.81-180.80 μg/ml for isocyclosporine H( $r=0.999\ 8$ ) and 2.02-202.40 μg/ml for isocyclosporine A( $r=0.999\ 9$ ), respectively. RSDs of precision, stability and repeatability tests were ≤0.3%. The average recovery of cyclosporine for was 99.94% (RSD=0.10%,  $n=3$ ). CONCLUSIONS: The method is accurate and reliable with high sensitivity and strong specificity, and can be used for quality control of Cyclosporin injection.

**KEYWORDS** Cyclosporine; Content determination; Related substances; HPLC

环孢素为免疫抑制剂,可选择性地作用于T淋巴细胞活化初期,临床主要用于防止异体器官或骨髓移植时的排斥等不利的免疫反应。环孢素的出现是近20年来器官移植的最重大进展<sup>[1-2]</sup>。环孢素中含有6种杂质,控制杂质的含量对保证药品质量和用药安全具有重要意义。为此,笔者参考相关文献<sup>[3-7]</sup>,建立了采用高效液相色谱(HPLC)法,对环孢素注射液中主成分的含量和有关物质同时进行了测定,以为其质量控制提供参考。

### 1 材料

1260型HPLC仪,包括1200高性能自动进样器、1200四元泵、1200二极管阵列检测器(美国安捷伦公司);Mettler TOLEDO型电子天平[梅特勒-托利多(上海)有限公司]。

环孢素对照品(中国食品药品检定研究院,批号:130495-200202);环孢素C、环孢素B、环孢素G、环孢素H、异环孢素H、异环孢素A对照品(诺华制药有限公司,批号:005-95、518-85、16-85、520-85、210-89、502-88);环孢素注射液(北京双鹭药业股份有限公司,批号:20090601;瑞士Novartis Pharma Stein AG,批号:S036、S042、S043);四氢呋喃为色谱

[4] 段立军,孙博航.黄芪甲苷的研究进展[J].沈阳药科大学学报,2011,28(5):410.

[5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:283.

[6] 邓跃宁,夏厚林,程军,等.川黄芪质量标准研究[J].中药与临床,2010,1(2):18.

[7] 罗文汇,李养学,孙冬梅,等.陈皮配方颗粒质量标准研究[J].中国药业,2010,20(2):32.

[8] 王珍,李鑫.补肾健脾颗粒质量标准研究[J].中成药,2010,32(7):1252.

[9] 项秀娣,吕圭源,陈素红,等.莜术油质量控制及药理研究进展[J].中国现代应用药学,2010,27(11):979.

[10] 肖峰,万明.蒸发光散射检测器测定黄芪甲苷参数的优化[J].湖北中医杂志,2014,8(36):72.

[11] 唐丽香.ELSD-HPLC法测定前列通胶囊中黄芪甲苷的含量[J].海峡药学,2010,22(8):105.

(收稿日期:2014-06-03 修回日期:2014-09-28)

(编辑:孙冰)

\* 药师,硕士。研究方向:药物分析。电话:0311-85212008。  
E-mail:pangwenzhe123@aliyun.com