

HPLC-ELSD 法测定祝艾康胶囊中黄芪甲苷的含量

孙健¹, 刘泓², 范斌^{1*}

(1. 中国中医科学院医学实验中心, 北京 100700;
2. 中国中医科学院中医基础理论研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 建立中药复方祝艾康胶囊中黄芪甲苷的含量测定方法。方法: 采用 Diamonsil C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 乙腈-水 (33:67) 为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 35 °C, 漂移管温度 105 °C, 空气流速 2.7 L·min⁻¹。结果: 黄芪甲苷在 1.515 ~ 7.575 μg 具有良好的线性关系 ($r=0.999\ 96$), 平均回收率 98.83%, RSD 1.8%。结论: 该法准确、可靠、重复性好, 可用于控制祝艾康胶囊的质量。

[关键词] 祝艾康胶囊; 黄芪甲苷; 高效液相-蒸发光散射检测法

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)04-0060-03

Determination of astragaloside IV in zhuaikang capsule by HPLC-ELSD

SUN Jian^{1*}, LIU Hong², FAN Bin¹

(1. *Experimental Research Center, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;*
2. *Institute of Basic Theory of Traditional Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China*)

[Abstract] **Objective:** To establish a method of determining the content of astragaloside IV in Zhuaikang Capsule. **Method:** The separation was performed on a Diamonsil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column with acetonitrile-water (33:67) as the mobile phase. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. Temperature of drift tube was set at 105 °C. The gas flow rate was at 2.7 L·min⁻¹. **Result:** Astragaloside IV was linear in the range of 1.515 ~ 7.575 μg ($r=0.999\ 96$). The average recovery rate of astragaloside IV was 98.83%, RSD 1.8%. **Conclusion:** This method is sensitive, accurate, and simple with little interference for the determination of astragaloside IV content. The method can be used for controlling the quality of Zhuaikang Capsule.

[Key words] Zhuaikang Capsule; astragaloside IV; HPLC-ELSD

祝艾康胶囊是由炙黄芪、白术、丹参等 10 味中药组成, 具有益气养阴、培元固本、活血祛湿的功效, 主要用于治疗艾滋病毒引起的免疫功能低下, 调整缺损的免疫系统。其中黄芪为方中本方君药, 益气作用的主要中药。黄芪中所含黄芪甲苷作为含量测定指标成分载入药典^[1]。又因黄芪甲苷的最大吸收波长为 200.8 nm^[2], 为末端吸收, 难于用紫外检测器检测。笔者采用 HPLC-ELSD 法检测祝艾康胶囊中黄芪甲苷的含量, 为控制本品质量提供了依据。

1 仪器与试剂

美国 Agilent1100 高效液相色谱仪, Chemstation 色谱工作站。美国 Alltech 2000 蒸发光散射检测器。祝艾康胶囊 (北京圣龙堂生物科技有限公司批号: 060415, 060416, 060417), 黄芪甲苷 (批号: 0781-200109 中国药品生物制品检定所), 乙腈为色谱纯 (J. T. Baker), 甲醇为色谱纯正丁醇, 乙醇为分析纯 (北京化学试剂公司), 水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 Hypersil-Keystone C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相乙腈-水 (33:67); 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 35 °C; 漂移管温度 105 °C, 空气流速 2.7 L·min⁻¹, 理论板数按黄芪甲苷峰计算不低于 7 000, 见图 1。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取黄芪甲苷对照

[收稿日期] 2009-08-11

[通讯作者] * 范斌, Tel: (010) 64014411-3324; E-mail: binf@

263.net

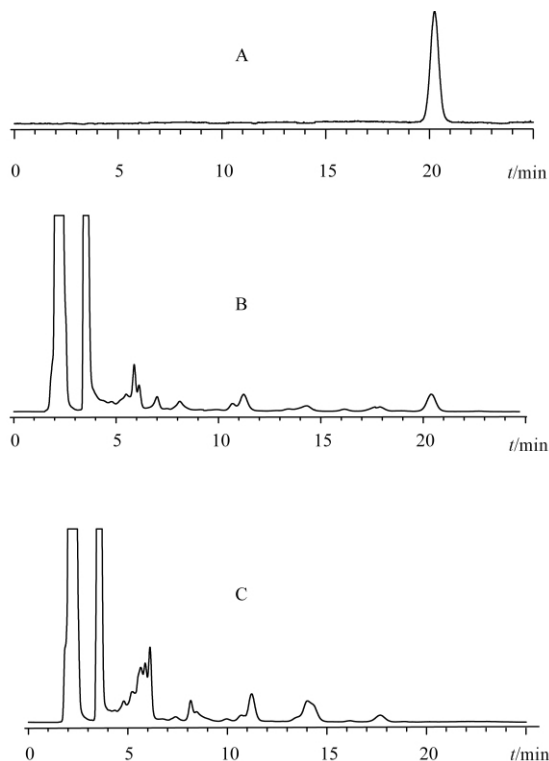


图 1 祝艾康胶囊中黄芪甲苷的 HPLC 图谱
A. 黄芪甲苷对照品; B. 供试品; C. 阴性对照品

品适量,加甲醇制成每 1 mL 含 0.3 mg 的溶液,即得。

2.3 供试品溶液的制备 取本品胶囊内容物 2 g,精密称定,置索氏提取器中,加甲醇 40 mL 冷浸过夜,分别加热回流提取 5 h,提取液回收甲醇并浓缩至干,残渣加水 10 mL 微热使溶解,用水饱和的正丁醇振摇提取 4 次,每次 40 mL,合并正丁醇液,用氨试液洗涤 2 次,每次 40 mL,弃去氨液,正丁醇液蒸干,用甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液即得。

2.4 阴性样品溶液的制备 阴性溶液的制备是按处方中药味的比例,自配不含炙黄芪的群药,按其工艺制成缺空白制剂,再按 2.3 项下的方法制备并测定,结果空白溶液在与黄芪甲苷对照品相同保留时间处未显色谱峰,故认为无干扰。

2.5 线性关系考察 取干燥至恒重的黄芪甲苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 0.030 3 mg·mL⁻¹ 黄芪甲苷的溶液。精密吸取 5, 10, 15, 20, 25 μL,注入液相色谱仪中,测定峰面积,以对照品进样量的自然对数为横坐标,以对照品峰面积的自然对数为纵坐标,绘制标准曲线。回归方程为: $Y = 1.486$

$6X + 4.718 0$, $r = 0.999 96$,结果表明,黄芪甲苷在 1.515 ~ 7.575 μg 内的对数值与峰面积的对数值具有良好的线性关系。

2.6 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液(批号:060417) 20 μL,在所确定的 2.1 项条件下,重复进样 6 次,求得黄芪甲苷峰面积对数值的相对标准偏差 RSD = 1.1%。结果表明仪器的精密度较好。

2.7 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液(批号:060417) 20 μL,分别于制备后 0, 1, 4, 6, 24 h 依次进样,测得黄芪甲苷峰面积对数值的相对标准偏差 RSD = 0.5%。试验结果表明,供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.8 重复性试验 取同一批样品(批号:060417)按上述方法制成 6 份供试品溶液,在所确定的 HPLC 条件下进行测定黄芪甲苷含量,平均质量分数 0.631 0 mg·g⁻¹,相对标准偏差 RSD = 2.5%,说明方法重复性良好。

2.9 加样回收率 采用加样回收法,精密量取已知含量同一批号(批号:060415,含黄芪甲苷 0.6218 mg·g⁻¹)的样品 1.1 g,分别精密加入黄芪甲苷对照品溶液 0.030 3 mg·mL⁻¹ 各 10 mL,按 2.3 项下方法制备及 2.1 项下条件测定,计算回收率,结果见表 1。

表 1 黄芪甲苷回收率

称样量 /g	样品中含量 /mg	加入量 /mg	测定量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1.075 82	0.668 9	0.303 0	0.965 9	98.0		
1.099 57	0.683 7	0.303 0	0.990 2	101.2		
1.090 92	0.678 3	0.303 0	0.977 9	98.9		
1.067 15	0.663 6	0.303 0	0.968 1	100.5	98.8	1.8
1.068 33	0.664 3	0.303 0	0.961 4	98.1		
1.119 85	0.696 3	0.303 0	0.988 1	96.3		

2.10 样品测定 取 3 批供试品,按 2.3 项下方法制备样品供试液,及 2.1 项下色谱条件,黄芪甲苷对照品浓度 0.3 mg·mL⁻¹,分别进样 15 μL, 20 μL 和供试品溶液 20 μL,注入液相色谱仪,以外标两点法计算黄芪甲苷含量,结果供试品中黄芪甲苷质量分数分别为 0.621 8, 0.629 1, 0.631 0 mg·g⁻¹。

3 讨论

本实验采用氨试液洗涤的供试液制备方法源于药典^[1],经过对比未经氨试液洗涤和氨试液洗涤两种方法对供试液中黄芪甲苷检测量的影响。结果显示未经氨洗涤所测得的黄芪甲苷出峰位置有干扰,

调经止痛颗粒质量标准的研究

张慕群¹, 孟召全², 崔淑莲^{1*}

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 北京中医药大学东方医院, 北京 100078)

[摘要] 目的:制定复方调经止痛颗粒的质量标准。方法:采用高效液相色谱法对当归、川芎中阿魏酸进行含量测定。结果:阿魏酸的回归方程 $Y = 8.748 + 3708.55X$ $r = 0.9999$, 平均回收率 97.58%, 重复性 RSD 为 2.64%。结论:阿魏酸的含量测定方法稳定, 重复性好, 可作为复方制剂的质量控制方法。

[关键词] 调经止痛颗粒; 阿魏酸; 高效液相色谱法

[中图分类号] R283.6

[文献标识码] B

[文章编号] 1005-9903(2010)04-0062-02

调经止痛颗粒由当归、川芎、三七、夏枯草和延胡索等中药组成, 具有补血、活血、祛瘀止痛之功, 主治血虚萎黄、月经不调、经闭痛经等症。为了保证药物的安全性、有效性和可控性, 对制剂质量进行研究, 对制剂中当归、川芎中的有效成分阿魏酸, 采用高效液相色谱法进行含量测定, 并进行了方法学研究。

1 仪器与试剂

美国 HP1100 高效液相色谱仪, G1311A 四元泵, G1313A 自动进样器, G1316A 柱温箱, G1315A 二极管矩阵检测器, HPCHEM 色谱工作站。阿魏酸 Narringin (722-200006) 购自中国药品生物制品检定所。甲醇为色谱纯(天津市四友生物医学技术有限公司), 醋酸分析纯(北京化工厂), 水为高纯水。

2 含量测定

2.1 色谱条件 色谱柱 ZORBAX RX-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm 5 μm), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 320 nm, 柱温 25 °C, 流动相 甲醇-1% 冰醋酸 (30:70)。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取阿魏酸对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.03 mg 的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备 取本品约 2 g, 研细, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加 5% 碳酸钠溶液 50 mL, 称定质量, 超声处理 30 min, (功率 250 W, 频率 20 kHz), 放置至室温, 再称定质量, 用 5% 碳酸钠溶液补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密吸取续滤液 25 mL, 用盐酸 1~3 mL 调节 pH 至 1~2 后, 再用乙醚萃取 3 次, 每次 30 mL, 合并乙醚液, 蒸干, 残渣加甲醇定量转移至 5 mL 量瓶中并稀释至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45 μm) 滤过, 即得。

2.4 空白溶液的制备 按处方中药味比例, 自配不

[收稿日期] 2009-09-03

[通讯作者] * 崔淑莲, Tel: (010) 64014411-2971

且测得含量远低于经过氨试液处理的。黄芪除含有皂苷类成分外, 尚含有较多的氨基酸、多糖、黄酮、酚性化合物, 以及多种微量元素等成分。氨试液处理是否导致黄芪甲苷从络合状态, 转变为游离状态, 有待于进一步研究^[3]。

提取时间的选择曾试验用置索氏提取器分别加热回流提取胶囊内容物 3、4、5 h, 测定样品中黄芪甲苷的含量分别为 0.404 3, 0.488 1, 0.552 7 mg/粒, 其中 5 h 提取效果最好, 故选择加热回流提取 5 h。

本品为中药复方制剂, 所含成分复杂、相互干扰大, 试验采用 HPLC-ELSD 法检测祝艾康胶囊中黄芪甲苷的含量, 结果稳定、重复性强、专属性好, 是控制

本品内在质量的理想方法。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 212.
- [2] 田南卉, 杨国红, 方颖, 等. 高效液相色谱法蒸发光散射检测器测定黄芪和制剂中黄芪甲苷的含量[J]. 药物分析杂志, 2000, 20(3): 199.
- [3] 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.