

HPLC-ELSD 法测定百草精口服液中黄芪甲苷的含量

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: 建立中药复方百草精口服液中黄芪甲苷的含量测定方法。方法: 采用 Diamonsil C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 乙腈-水(33: 67)为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 35 ℃, 漂移管温度 105 ℃, 空气流速 2.7 L·min⁻¹。结果: 黄芪甲苷线性方程为 $Y = 1.481 0X + 4.613 5$, 在(1.20~ 6.00) μg 范围内具有良好的线性关系($r = 0.999 97$), 平均回收率为 99.6%, RSD 为 2.6%。结论: 该法准确、可靠、重复性好, 可有效控制百草精口服液的质量。

[关键词] 百草精口服液; 黄芪甲苷; 高效液相色谱-蒸发光散射检测法; 含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)01-0006-02

Determination of Astragaloside IV in Baicaojing Oral Solution by HPLC-ELSD

SUN Jian¹, LIU Hong², FAN Bin^{1*}

(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 develop an HPLC method for determination of astragaloside IV in Baicaojing Oral Solution. **Methods:** 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 105 ℃. The gas flow rate was at 2.7 L·min⁻¹. **Results:** Within the range of (1.20~ 6.00) μg, the content of astragaloside IV showed a good linear relationship($Y = 1.481 0X + 4.613 5$, $r = 0.999 97$). The average recovery of astragaloside IV was 99.6%, RSD 2.6%. **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 Baicaojing Oral Solution.

[Key words] Baicaojing Oral Solution; astragaloside IV; HPLC-ELSD; content determination

百草精口服液是由黄芪、鹿茸、黄芩、红花等 12 味中药组成, 具有益气助阳、清热解毒、活血化瘀的功效, 用于艾滋病人免疫功能低下、阳气虚弱、热毒瘀阻证。其中黄芪为方中君药。黄芪甲苷是黄芪的主要活性成分之一^[1], 本实验以黄芪甲苷为指标, 采用 HPLC-ELSD 法进行检测并制定本品的质控标准, 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; 百草精口服液(景宁畲族自治县天然新特药品研究所公司批号 060710、060713、060714); 黄芪甲苷(批号: 0781-9807 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: Diamonsil C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水(33: 67); 流速: 1.0 mL·min⁻¹, 柱温: 35 ℃; ELSD 参数: 漂移管温度 105 ℃, 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, 色谱图见图 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] 2008-07-24

[通讯作者] * 范 斌, Tel: (010) 64014411-3324; E-mail: binf@263.net

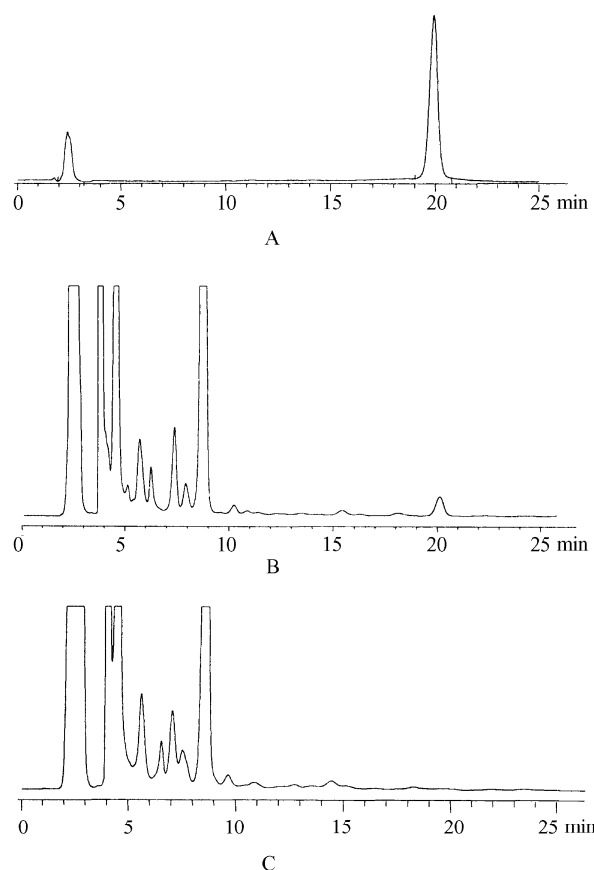


图 1 百草精口服液中黄芪甲苷的 HPLC 图谱
A. 黄芪甲苷对照品; B. 供试品; C. 阴性对照品

品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.2 mg 的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备 精密量取本品溶液 10 mL, 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 μ m)滤过, 取续滤液即得。

2.4 阴性空白样品溶液的制备 空白溶液的制备是按处方中药味的比例, 自配不含黄芪的群药, 按其工艺制成缺黄芪空白制剂, 再按 2.3 项下方法制备并测定, 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 1 mL 含 0.240 mg 的溶液。精密吸取 5, 10, 15, 20, 25 μ L, 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: $Y = 1.481 0X + 4.613 5$, $r = 0.999 97$, 结果表明, 黄芪甲苷在(1.20~ 6.00) μ g 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

060710) 20 μ L, 在所确定的 HPLC 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 $RSD = 0.02\%$ 。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 060710) 20 μ L, 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 $RSD = 0.04\%$ 。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 060710) 按 2.3 方法制成 6 份供试品溶液, 在所确定的 HPLC 条件下测定黄芪甲苷含量, 平均含量 8.910 mg/支(120 mL), 相对标准偏差 $RSD = 2.3\%$, 说明方法重复性良好。

2.9 加样回收率 采用加样回收法, 分别精密量取黄芪甲苷对照品溶液 10 mL, 试管内氮气流吹干, 精密量取已知含量同一批号(060710) 的样品 5 mL, 涡旋溶解, 根据量取样品的体积成比例按 2.3 项的制备方法及 2.1 项条件测定, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 回收率试验

样品	样品含量(mg)	加入量(mg)	测定量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	0.362	0.410	0.763	97.78	99.6	2.6
2	0.362	0.410	0.756	96.07		
3	0.362	0.410	0.779	101.70		
4	0.362	0.410	0.773	100.30		
5	0.362	0.410	0.767	98.75		
6	0.362	0.410	0.784	102.90		

2.10 样品测定 取 3 批供试品, 按 2.3 制备样品供试液, 按 2.1 色谱条件, 黄芪甲苷对照品浓度: 0.2 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 分别进样 10 μ L、15 μ L 和供试品溶液 20 μ L, 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含量分别为 7.974, 8.225, 8.910 mg/支。

3 讨论

黄芪甲苷在 201 nm 波长处有末端吸收, 如选择 UV 检测器测定其含量, 受溶剂影响很大, 不易进行分析。采用的蒸发光散射检测器不受流动相光谱本底的干扰, 分离效果很好, 灵敏度及稳定性亦符合含量测定的要求。

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 法检测百草精口服液中黄芪甲苷的含量, 结果稳定、可靠、专属性好, 可作为该制剂的质量控制的方法。

[参考文献]

- [1] 林琦, 陆阳, 陈泽乃. 黄芪属植物皂苷类成分研究进展[J]. 国外医药·植物药分册, 2002, 17(4): 134-146.