

HPLC 测定黄芪精中黄芪甲苷的含量

张虹 叶美娣 陈学锋(湖州 313000 浙江省湖州市第一医院)

摘要 目的: 测定黄芪精中黄芪甲苷的含量。方法: 采用 HPLC 法。色谱柱 Ultrasphe re-ODS $5\mu\text{m}$ $4.6\text{m m} \times 25\text{cm}$; 流动相乙腈 0.1% 磷酸(33: 67); 检测波长 203nm; 流速 $1\text{m l} \cdot \text{m in}^{-1}$ 。结果: 平均回收率 98.20%, RSD 2.13%。结论: 本方法可用于黄芪精中黄芪甲苷的含量测定。

关键词 HPLC; 黄芪精; 黄芪甲苷

Determination of Astragaloside IV in Huang Qi Jing by HPLC

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a HPLC method for the determination of Astragaloside IV in Huang Qi Jing. **METHOD:** A Utrasphere-ODS column ($5\mu\text{m}$, $4.6\text{mm} \times 25\text{cm}$) was used with a mobile phase of acetonitrile-0.1% phosphoric acid (33: 67). The detection wavelength was 203nm. The flow rate was $1\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$. **RESULTS:** The average recovery was 98.20% (RSD 2.13%). **CONCLUSION:** The method is suitable for assay of Astragaloside IV in Huang Qi Jing. **KEY WORDS** HPLC, Huang Qi Jing, astragaloside IV

黄芪精为中华人民共和国卫生部药品标准^[1]记载的中药品种,系黄芪制成的口服液。部颁标准对其有效成分黄芪甲苷,采用 TLC 鉴别,而对其含量测定则未作规定。文献对黄芪甲苷的含量测定多有报道^[2,3]。本文采用 HPLC 法,对黄芪精中黄芪甲苷进行了定量分析。

1 仪器及试剂

美国 Beckman 公司 HPLC 仪(125 双泵,166 检测器),紫外分光光度计 TU-1200(北京市通用仪器设备公司)。

乙腈为色谱纯,其它试剂均为分析纯,水为重蒸馏水。黄芪甲苷对照品(中国药品生物制品检定所,781-9002),黄芪精(市售)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

分析柱为 Utrasphere-ODS $5\mu\text{m}$ $4.6\text{mm} \times 25\text{cm}$;流动相为乙腈:0.1% 磷酸(33: 67);流速 $1\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$,检测波长 203nm,常温操作。

2.2 供试品溶液的制备

精密吸取样品 10ml,用水饱和的正丁醇于分液漏斗中萃取 3 次,每次 10ml。合并 3 次正丁醇萃取液,用氨试液洗 2 次,每次 10ml,弃去氨液,正丁醇液蒸干,残渣精密加甲醇 20ml 溶解,用 $0.4\mu\text{m}$ 滤膜抽滤。为供试品溶液。对照品及样品色谱图见图 1。

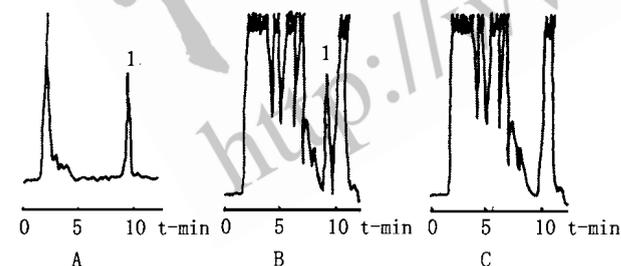


图 1 色谱图

A- 对照品 B- 样品 C- 空白样品 1- 黄芪甲苷

2.3 线性关系的考察

精密称取黄芪甲苷对照品 10mg,加甲醇溶解并定容至 10ml 量瓶中,以浓度 $C(\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1})$ 25, 50, 75, 100, 200 进样。进样量 $20\mu\text{l}$,按上述色谱条件测定,得峰 A,经回归为 $C = 40.584A + 1.8971$ ($n = 3$), $r = 0.9995$,线性范围 $25 \sim 200\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 。

2.4 回收率试验

采用加样回收率法测定。取已测定含量的样品三批,各精密吸收 10ml,分别加入对照品溶液 100, 150, $200\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 三种浓度各 1ml,按 2.2 项操作方法操作后,各进样 $20\mu\text{l}$ 3 次,测得回收率见表 1。

2.5 精密度试验

取上述供试品溶液 1 份,分别于 1 天内进样 5 次,和 5 天内每天进样 1 次,进样量 $20\mu\text{l}$,测得日内与日间差(RSD)均小于 1.82%。

2.6 重现性试验

取样品按 2.2 项下操作,制备 5 份供试液,分别进样,测得 RSD 为 2.06%。

2.7 空白试验

按处方及生产工艺模拟制备不含黄芪药材的空白样品,按 2.2 项下操作,制成空白对照液进样测试,结果在与黄芪甲苷相应的保留时间出峰处无干扰,见图 1。

2.8 样品测定

取三批样品,照 2.2 项下操作,各进样 $20\mu\text{l}$,按外标法峰面积定量,结果见表 1。

表 1 样品中黄芪甲苷含量测定与加样回收率结果($n = 3$)

批号	样品含量	加入量	测得总量	回收率	平均回	RSD
	$/\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$	$/\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$	$/\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$	%	收率%	%
990503	271.3 ± 1.84	100	360.4 ± 1.77	97.06		
		150	420.8 ± 1.97	99.88		
		200	461.2 ± 2.13	97.86		
990603	268.5 ± 2.14	100	358.9 ± 1.63	97.39		
		150	411.3 ± 1.71	98.28	98.20	2.13
		200	459.7 ± 2.04	98.12		
991122	270.3 ± 1.96	100	359.6 ± 1.58	97.11		
		150	418.8 ± 1.61	99.64		
		200	462.9 ± 1.84	98.43		

3 讨论

3.1 测定波长的选择

取对照品 $200\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 于 190nm ~ 400nm 范围内扫描,测得黄芪甲苷在近紫外区 200nm 左右有末端吸收,因此我们在 200nm ~ 210nm 左右选择测定波长。实验中,波长越长,噪音越小,但灵敏度也降低。综合考察这两种因素,选择 203nm 为测定波长。

3.2 流动相的选择

以甲醇:水(33:67)在30min内不出峰,改用乙腈:水(33:67)有吸收峰,但峰形不好,最后采用乙腈:0.1%磷酸(33:67),才得到满意效果。

参考文献

1 中华人民共和国卫生部药品标准[S]. 中药成方制剂. 第六册.

1992:159.

- 2 付铁军,李伯刚,及元乔,等. HPLC法测定黄芪注射液中黄芪甲苷的含量[J]. 天然产物的研究与开发,1997,9(4):53.
- 3 阎汝南,王静竹,刘舒平,等. HPLC法测定黄芪中黄芪甲苷的含量[J]. 中国中药杂志1998,23(7):398~399.

收稿日期:2000-04-26