

高效液相色谱-蒸发光散射检测器法测定虫草精口服液中黄芪甲苷的含量

孙立华,吴爱英,张春辉(青岛市药品检验所,山东 青岛 266071)

摘要:目的 研究以 HPLC-ELSD 法测定虫草精口服液中黄芪甲苷的含量。方法 色谱柱:Shim-pack ODS 柱 (250 mm × 4.6 mm);流动相:乙腈-水(36:64);流速:0.8 mL·min⁻¹;进样量:20 μL;ELSD 参数:漂移管温度为 100 ℃,氮气流速:2.7 mL·min⁻¹。结果 黄芪甲苷在 1.6 ~ 8.0 μg 之间线性关系良好,相关系数 $r = 0.9988$;回收率为 98.89%,RSD = 1.3%。结论 本法灵敏、简便、准确,可用于本制剂的测定和质量控制。

关键词:高效液相色谱-蒸发光散射检测器法;黄芪甲苷;虫草精口服液

中图分类号:R917.70.1;R287 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2004)06-0485-03

Determination of astragaloside IV in Chongcaojing solution by HPLC-ELSD

SUN Li-hua, WU Ai-ying, ZHANG Chun-hui(Qingdao Institute for Drug Control, Qingdao 266071, China)

ABSTRACT:OBJECTIVE To establish a HPLC-ELSD method for determination of astragaloside IV in Chongcaojing solution.

METHOD With a shim-pack ODS column (250 mm × 4.6 mm), acetonitrile-water (36:64) was used as the mobile phase, the temperature of drift tube was 100 ℃. **RESULTS** The linearity was obtained over the range of 1.6 ~ 8.0 μg ($r = 0.9988$). The average recovery was 98.89% with RSD = 1.3%.

CONCLUSION The result show that this method is sensitive, simple, specific and accurate for the determination of astragaloside IV in Chongcaojing solution.

KEY WORDS: HPLC-ELSD; astragaloside IV; Chongcaojing solution

虫草精口服液是由黄芪、虫草、人参、当归等十余味中药 组成的复方制剂,具有健肾益肺、滋养肾阴之功用,用于肺肾

虚损,精血不足,慢性支气管炎,慢性肺心病,哮喘,慢性肾炎,抗衰老,抗疲劳。黄芪为我国常用中药之一,我国药典中收载的含黄芪的中成药有20种。黄芪甲苷常作为指标性成分用于黄芪的质量监控,目前关于黄芪甲苷的含量测定多采用比色法、薄层扫描法、HPLC-UV法、HPLC-示差折光检测器法^[3],但由于黄芪甲苷仅在200nm左右有微弱吸收,因而干扰大,灵敏度低。ELSD为通用型质量检测器,对无紫外吸收的皂苷类化合物灵敏度高,结果可靠,可作为黄芪药材及其制剂品质评价的依据。本实验应用高效液相色谱-蒸发光散射检测器法,对其中黄芪皂苷IV(即黄芪甲苷)的含量进行了测定。

1 仪器与试剂

LC-10A高效液相色谱仪(日本岛津);蒸发光检测器(美国Alltech ELSD2000);CLASS-VP色谱数据工作站(日本岛津公司)。黄芪甲苷对照品(中国药品生物制品检定所);虫草精口服液(青海三普药业股份有限公司)。乙腈为色谱纯,纯净水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Shim-pack ODS柱(250 mm×4.6 mm);流动相:乙腈-水(36:64);流速:0.8 mL·min⁻¹;进样量:20 μL;ELSD参数:漂移管温度为100℃,氮气流速:2.7 mL·min⁻¹。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取黄芪甲苷对照品,加甲醇制成1.0 mg·mL⁻¹的对照品溶液(储备液),精密吸取该对照品溶液1.0和2.0 mL,以甲醇定容到5 mL量瓶中,作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液及阴性供试溶液的制备

精密量取本品25 mL,用水饱和的正丁醇振摇提取5次(30,30,25,20,10 mL),合并正丁醇提取液,用氨试液洗涤3次(30,20,20 mL),弃去氨液,正丁醇液蒸干,残渣加水3~5 mL使溶解,放冷,通过D101型大孔吸附树脂柱(内径1.5 cm,长12 cm),以水50 mL洗脱,弃去水液,再用40%乙醇30 mL洗脱,弃去40%乙醇洗脱液,继用70%乙醇60 mL洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣用甲醇溶解并转移至2 mL量瓶内,加甲醇至刻度,摇匀,作为供试品溶液。取阴性对照样品(无黄芪),同法制成阴性供试品溶液。

2.4 空白试验

分别取对照品溶液,供试品溶液,阴性供试品溶液各20 μL注入色谱仪中,记录色谱,阴性供试溶液在黄芪甲苷峰位置无假阳性峰,色谱图见图1。

2.5 标准曲线的制备与线性关系的考察

精密称取黄芪甲苷对照品,加甲醇制成0.8092 mg·mL⁻¹的对照品溶液,精密吸取对照品溶液0.5,1.0,1.5,2.0,2.5 mL,以甲醇定容到5 mL量瓶中,进样20 μL,以对照品峰面积的自然对数值为纵坐标,以进样量(μg)的自然对数值为横坐标,得回归方程为:Y=1.2906 X+11.929, r=0.9988;线性范围为:1.6~8.0 μg。

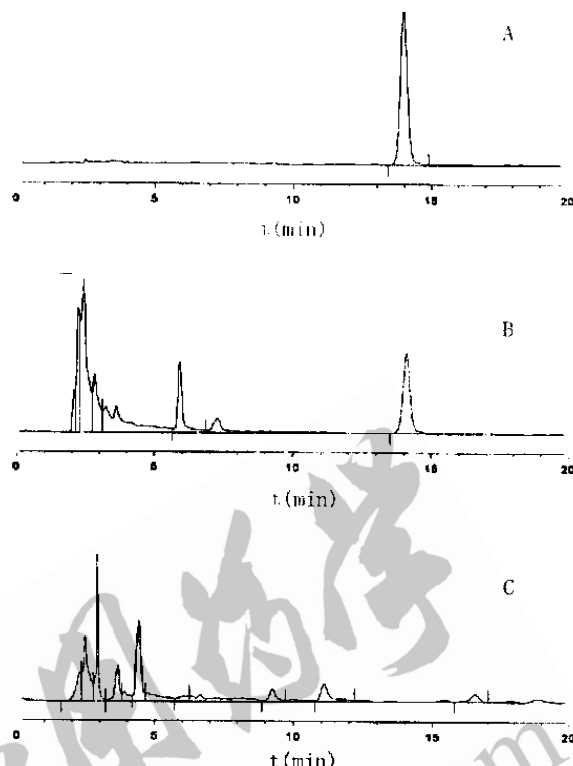


图1 黄芪甲苷 HPLC-ELSD 图谱

Fig 1 HPLC-ELSD chromatograms of atragaloside IV and samples

A: 对照品; B: 样品; C: 阴性品

A: standard; B: sample; C: blank sample

2.6 精密度和稳定性考察

精密吸取供试品溶液,连续进样5次,每次20 μL,黄芪甲苷峰面积积分值的RSD为1.0%。同一供试品溶液日内每隔2h,日间每隔24,48,72h测定一次黄芪甲苷的峰面积积分值,日内RSD=0.9%(n=6),日间RSD=3.9%(n=4),72h内基本稳定,以10h内测定最佳。

2.7 重现性试验

取同一批供试品(批号:010716),依法操作,重复5次,其黄芪甲苷含量见表2,平均含量为0.22 mg/支, RSD=1.4%。

2.8 回收率试验

精密量取已知含量的样品15 mL,加入一定量的黄芪甲苷对照品,依法操作,计算回收率,结果见表1。

表1 加样回收率测定结果

Tab 1 The recovery of astragaloside IV

编号	取样量 (mL)	样品中 含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回 收率 (%)	RSD (%)
1	15	0.33	0.83	1.125	95.78		
2	15	0.33	0.93	1.253	99.24		
3	15	0.33	0.91	1.222	98.02	98.436	1.8
4	15	0.33	0.89	1.206	98.42		
5	15	0.33	0.96	1.297	100.72		

2.9 样品测定

待测 10 批样品按供试品制备项下操作、测定,采用外标二点法计算,结果见表 2。($n=5$)

表 2 虫草精口服液中的黄芪甲苷测定结果

Tab 2 Determination of astragaloside IV in Chongcaojing solution

批号	黄芪甲苷平均含量(mg/ 支)	RSD(%)
010716	0.22	1.4
010718	0.19	0.9
010720	0.36	1.2
001225	0.20	1.1
001226	0.16	1.5
001236	0.20	2.0
001231	0.13	1.8
990410	0.18	1.3
990615	0.25	1.6
990616	0.20	1.9

3 讨论

3.1 ELSD 是一种通用型质量检测器,尤其适用于没有紫外吸收的皂苷类化合物。本实验采用 HPLC-ELSD 法对虫草

精口服液中的黄芪甲苷含量进行了测定,结果证明,在上述色谱条件下分离良好,结果可靠,重现性好,适用于黄芪及其制剂的质量评价标准。根据所测结果,暂定本品含黄芪甲苷每支不少于 0.10 mg。

3.2 比较了本方法与薄层扫描法对虫草精口服液中的黄芪甲苷含量测定,结果基本一致。(见另文报道)

3.3 本实验提取方法基本采用了中国药典 2000 年版一部^[2]的方法,考察发现正丁醇提取次数、70 %乙醇洗脱体积对结果有影响,选择正丁醇提取 5 次、70 %乙醇洗脱液 60 mL,测定结果和回收率均满意。

参考文献

- [1] 汪红,王强.HPLC-ELSD 法测定黄芪及其注射液中黄芪皂苷 IV, III, I 的含量[J].中国药学杂志,2002,37(4):298.
- [2] 中国药典 2000 年版一部[S].广州:广东科学技术出版社,1995.271.
- [3] 池玉梅,姜海英.HPLC 示差折光检测测定黄芪及其注射液中黄芪甲苷的含量[J].中国药学杂志,2001,36(1):49.

收稿日期:2003-04-07