

HPLC-ELSD 测定黄莢通闭胶囊中黄芪甲苷的含量

方国英¹, 黄亦梅¹, 何厚红², 帅怀华³ (1. 浙江省富阳市人民医院, 杭州 311400; 2. 浙江康恩贝研究院, 杭州 310052; 3. 浙江省临安中医院, 杭州 311300)

摘要:目的 建立黄莢通闭胶囊中黄芪甲苷的含量测定方法。方法 采用 HPLC-ELSD 法对黄莢通闭胶囊中黄芪甲苷的含量进行测定。结果 黄芪甲苷在 1.00~30.06 μg 呈良好线性关系, $r=0.999\ 7$, 平均回收率为 97.56%, RSD 为 2.44% ($n=9$)。结论 该方法简便、可靠、重复性好, 可用于黄莢通闭胶囊中黄芪甲苷的含量测定。

关键词:黄莢通闭胶囊; 黄芪甲苷; HPLC-ELSD 法; 含量测定

中图分类号: R917.101; R283.6 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2007)04-0314-02

Determination of Astragaloside IV in HuangETongBi Capsules by HPLC-ELSD

FANG Guo-ying¹, HUANG Yi-mei¹, HE Hou-hong², SHUAI Huai-hua³ (1. Peoples Hospital of Fuyang, Hangzhou 311400, China; 2. Kangenbei Research Insititute, Hangzhou 310052, China; 3. Linan Traditional Medicine Hospital, Hangzhou 311300, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a HPLC-ELSD method for determination of Astragaloside IV in HuangETongBi capsules. **METHODS** Astragaloside IV in HuangETongBi capsules was determined by HPLC-ELSD. **RESULTS** There was a good linearity between 1.00–30.06 μg ($r=0.999\ 7$). The average recovery was 97.56% (RSD = 2.44%, $n=9$). **CONCLUSION** The method for determination is simple, realiable and reproducible. The results showed that HPLC-ELSD is a good method for determination of Astragaloside IV in HuangETongBi capsules.

KEY WORDS: HuangETongBi capsules; Astragaloside IV; HPLC-ELSD; determination

黄莢通闭胶囊是由黄芪等十多种中药研制而成, 具有益气活血、清利湿热等功效, 用于前列腺增生的气虚血淤、湿热阻滞等证候。本品曾采用薄层色谱扫描方法测定了其中的黄芪甲苷含量, 由于该方法样品前处理步骤较为复杂, 测定结果变异较大, 含量测定方法需进一步提高和完善。笔者采用 HPLC-ELSD 对黄莢通闭胶囊中的黄芪甲苷进行了含量测定研究, 实验结果表明, 该法灵敏度、稳定性和重复性均能满足要求。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1100 高效液相色谱仪; SEDEX 75 型蒸发光散射检测器; KQ-250DB 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); R 系列旋转蒸发器(上海申生科技有限公司); METTLER AE240 电子天平。

1.2 试剂

黄芪甲苷对照品购自中国药品生物制品检定所(批号: 0781-200311); 黄莢通闭胶囊由浙江康恩贝制药股份有限公司提供; 其余试剂均为色谱纯或分析纯。

2 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C₁₈ 柱, 150 mm×4.6 mm, 5 μm ; 流动相: 乙腈-水(32:68); 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 进样量: 20 μL 。

ELSD 参数: 雾化气体: 氮气; 雾化压力: 3.5 Bar; 灵敏度: 6; 温度: 40 $^{\circ}\text{C}$ 。

3 溶液的制备

对照品溶液的制备: 取黄芪甲苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液, 即得。

供试品溶液的制备: 取装量差异项下的本品, 研细, 取约 5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 80% 甲醇 50 mL, 混匀, 称定重量, 超声处理 30 min(功率 250 W, 频率 40 kHz), 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 35 mL, 浓缩至干, 残渣加水 15 mL, 微热使溶解, 用氨试液饱和的正丁醇振摇提取 3 次, 每次 40 mL, 合并正丁醇提取液, 用氨试液洗涤 3 次, 每次 40 mL, 正丁醇提取液回收溶剂至干, 残渣加甲醇溶解并转移至 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。

4 空白试验

按处方组成, 取除黄芪外的其余药味, 按工艺要求制成不含黄芪的黄莢通闭胶囊。按上述供试品溶液的制备方法操作, 得空白溶液, 注入液相色谱仪中, 结果空白溶液无干扰。

5 线性关系考察

精密称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, 精密吸取 2.5, 10, 20, 40, 60 μL 进样, 以进样量(自然对数)为横坐标, 峰面积积分值(自然对数)为纵坐

标,线性回归方程 $Y = 1.4988x + 4.7221, r = 0.9997$, 进样量在 $1.00 \sim 30.06 \mu\text{g}$ 呈良好线性关系。

6 稳定性试验

取供试品制成的供试液,分别于 0, 1, 2, 4, 6 h, 进样 20 μL , 记录色谱图, 结果黄芪甲苷峰面积的 RSD 为为 2.1 % ($n = 5$) 表明本品在 6 h 内稳定。

7 重复进样精密度试验

取对照品溶液(浓度为 $0.50 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), 重复进样 5 次, 测得黄芪甲苷 $\text{RSD} = 0.78\%$, 表明仪器精密度良好。

8 重复性试验

取供试品(批号:041217), 于同 1 d 内称取 5 份样品测定, RSD 为 1.6% ($n = 5$)。

9 回收率试验

精密称取本品约 2.5 g, 加入对照品适量, 照供试品溶液制备项下方法操作, 制成供试品溶液, 依法测定, 结果见表 1。

表 1 黄芪甲苷加样回收率结果

Tab 1 Results of Astragaloside IV recoveries

称样量	样品中	对照品	测得总量	回收率	平均	RSD
/g	含量/mg	加入量/mg	/mg	/%	回收率/%	/%
2.05014	1.74	1.41	3.09	95.74		
2.5113	1.75	1.44	3.14	96.53		
2.4984	1.74	1.39	3.17	102.9		
2.5639	1.78	1.75	3.51	98.86	97.56	2.44
2.5111	1.75	1.72	3.39	95.35		
2.4808	1.73	1.76	3.43	96.59		
2.491	1.74	2.13	3.77	95.31		
2.5072	1.74	2.18	3.87	97.70		
2.5154	1.75	2.09	3.82	99.04		

10 样品测定

分别精密吸取对照品溶液 10, 30 μL 及供试品溶液 20 μL , 注入液相色谱仪, 测定, 用外标两点法对数方程计算, 即得。测得 041217, 041218, 041219 三批样品中黄芪甲苷的含量分别为 0.286 mg/粒、0.277 mg 粒、0.271 mg/粒。

11 讨论

由于中药化学成分的复杂性, 样品前处理是目前中药化学成分含量测定不可缺少的步骤。中药样品的前处理可能显著影响化学成分含量测定的结果。本实验通过对一些影响黄芪甲苷含量测定结果有较大影响的条件进行对比实验, 建立了一套适用于从黄芪通闭胶囊中提取黄芪甲苷的样品前处理方法, 是本法的特点和创新之处。

HPLC-ELSD 是高效液相色谱仪新一代通用型质量检测器, 其检测样品组分应是非挥发性的, 而流动相应是易挥发的溶剂, 其中载气流速和漂移管温度是该检测器的 2 个重要的可调参数, 流速过高或过低会直接影响信噪比, 从而影响峰面积和保留时间, 而温度过高或过低会直接影响溶剂的挥发程度, 以致影响基线的稳定性, 因此在实验过程中必须保持检测器设置参数的一致性。

据文献报道, 到目前为止, 应用 HPLC-ELSD 方法已经对多种常用中药中进行了分析, 有效的建立或提高了质量控制方法。在中国药典 2005 年版中, 已经收录了 HPLC-ELSD 方法作为质量控制的方法之一。HPLC-ELSD 方法已经成为一种有效的质量控制方法。虽然 ELSD 还有一些不足的地方, 如灵敏度还不够理想等。目前为止还不可能完全的替代 UV 检测器, 但是对于一些弱紫外吸收或无紫外吸收成分的分析, ELSD 的确发挥了重要作用。所以随着 ELSD 检测技术和仪器本身的不断完善, 相信会在中药成分分析中起到越来越重要的作用。本实验首次采用 HPLC-ELSD 法对黄芪通闭胶囊中黄芪甲苷进行含量测定, 灵敏度高, 分离度好, 干扰少, 前处理简便, 回收率高, 重复性好, 是一种良好的黄芪甲苷的测定方法。

参考文献

[1] The peoples republic of china pharmacopoeia, 2005 edition.
[2] LUO Y M, QIN Z, HONG Z, et al. Astragaloside IV protects a-
gainst ischemic brain injury in a murine model of transient focal
ischemia [J]. Neurosci Lett, 2004, 363: 218-223.