

高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定肾康宁片中黄芪甲苷的含量

俞建平, 方翠芳, 唐登峰(浙江省药品检验所, 杭州 310004)

摘要:目的 建立肾康宁片的定量质控方法。方法 采用 HPLC-ELSD 法测定肾康宁片中黄芪甲苷的含量。结果 黄芪甲苷进样量在 1.036 ~ 7.77 μg 内呈良好的线性关系, 平均回收率为 98.6%, $\text{RSD} = 1.3\%$ ($n = 11$)。结论 该方法简便, 重复性好, 可用于控制肾康宁片的质量。

关键词: 高效液相色谱-蒸发光散射检测法; 肾康宁片; 黄芪甲苷; 含量测定

中图分类号: R917.101; R289

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2007)05-0408-03

作者简介: 俞建平, 男, 副主任中药师

Tel: (0571)86459414

E-mail: WWW.YJP@1.com

YU Jian-ping, FANG Chui-fang, TANG Deng-feng (Zhejiang Institute For Drug Control, Hangzhou 310004, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a HPLC-ELSD method for the determination of Astragaloside in Shengkangning Pian. **METHODS** The content of astragaloside IV was determined by HPLC-ELSD. **RESULTS** A good linearity was observed for astragaloside IV in the range of 1.036 ~ 7.77 μg . The average recovery of astragaloside IV was 98.6% with RSD = 1.3% ($n = 11$). **CONCLUSION** HPLC-ELSD was simple and accurate with a good repeatability. It can be used for the quality control of Shengkangning Pian.

KEY WORDS: HPLC-ELSD; Shengkangning Pian; astragaloside IV; determination of content

肾康宁片由黄芪、山药、丹参、泽泻等味药经提取制成的片剂,具有补气固表,利尿托毒,排脓,敛疮生肌作用。黄芪甲苷为一极性较大,结构复杂的化合物,它在波长 200 ~ 210 nm 处有弱的末端吸收,采用 HPLC-UV 法可操作性差。笔者采用高效液相色谱-蒸发光散射检测(HPLC-ELSD)法测定肾康宁片中黄芪甲苷的含量,方法简便,重复性好,报道如下。

1 仪器与试药

惠普 HP1100 系列液相色谱仪(自动进样分析);Alltech 蒸发光散射检测仪。黄芪甲苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号为 0781-200210,含量测定用)。甲醇(Merck,色

谱纯),水(重蒸馏水),其他试剂均为分析纯。肾康宁片(正大青春宝药业有限公司),批号为 0406004、0508003、0508001、0412002、0506002、0412003。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Agilent C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-水(82:18);流速为 0.5 mL · min⁻¹;柱温 25 $^{\circ}\text{C}$;样品进样量为 20 μL 。蒸发光散射检测器,漂移管温度为 91 $^{\circ}\text{C}$,气体流速为 1.3 L · min⁻¹。理论板数按黄芪甲苷峰计应不低于 3 000。对照品、样品、阴性样品色谱图见图 1。

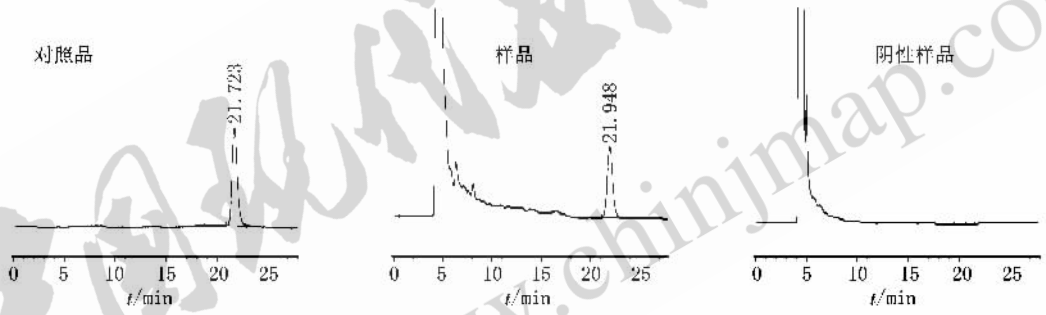


图 1 对照品、样品、阴性样品色谱图

Fig 1 HPLC-ELSD chromatograms of reference, sample and negative sample

2.2 供试品溶液的制备

取本品 40 片,去薄膜衣,称定,研细,取 4 g,精密称定,置具塞三角烧瓶中,精密加入 50% 甲醇 50 mL,称重,超声处理 30 min,放冷,称重,加 50% 甲醇补足重量,滤过,精密量取滤液 25 mL,蒸干,残渣加水 30 mL 微热使溶解,用水饱和的正丁醇提取 4 次,每次 30 mL,合并正丁醇液,用氨试液洗涤 2 次,每次 30 mL,弃去洗液,正丁醇液蒸干,残渣用甲醇溶解,转移至 5 mL 量瓶中,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,即得。

2.3 空白干扰试验

取除黄芪外等味药材经提取制成的片剂,按“2.2”项下的提取方法提取,测定,结果无干扰。

2.4 线性关系考察

精密称取经五氧化二磷减压干燥 24 h 的黄芪甲苷对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含 0.518 mg 的溶液作为对照品溶液。

精密吸取上述黄芪甲苷对照品液 2, 5, 10, 12, 15 μL ,按上述色谱条件测定峰面积,以进样量(μg)的对数(X)对峰面

积(A)的对数(Y)进行线性回归,求得回归方程: $Y = 1.3404X + 3.0209$, $r^2 = 0.9993$ 。黄芪甲苷在 1.036 ~ 7.77 μg 内呈良好的线性关系。

2.5 重复进样精密度试验

取同一供试品溶液(0508001),重复进样 6 次,结果 RSD = 0.7% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取同一供试品溶液(0508001),间隔一定时间测定一次,结果 RSD = 1.0% ($n = 7$),表明供试品溶液在 23 h 内基本稳定。

2.7 重复性试验

取同一批号样品 6 份(0508001),按样品测定方法进行测定,结果黄芪甲苷平均含量为 0.443 mg · g⁻¹, RSD = 1.0% ($n = 5$),表明方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

精密称取已知含量的样品(0508001)适量,精密加入一定量的黄芪甲苷对照品,依本法进行含量测定并计算回收率,结果平均回收率为 98.6%, RSD = 1.3% ($n = 11$),结果见表 1。

表 1 回收率试验($n = 11$)

Tab 1 Results of recovery experiments

取样量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率/%	RSD /%
2.0078	0.8895	1.096	1.9709	98.7	98.6	1.3
2.0054	0.8884	1.096	1.9594	97.7		
2.0084	0.8897	1.096	1.9628	97.9		
2.0028	0.8872	1.096	2.0045	101.9		
2.0000	0.8860	1.096	1.9621	98.2		
2.4764	1.0970	0.892	1.9810	99.1		
2.5031	1.1089	0.892	1.9752	97.1		
2.4936	1.1047	0.892	1.9790	98.0		
2.8407	1.2584	0.726	1.9689	97.9		
2.8444	1.2601	0.726	1.9754	98.5		
2.8474	1.2614	0.726	1.9803	99.0		

2.9 样品含量测定

取 6 批供试品溶液,按上述色谱条件进样、测定,采用标准曲线,按线性回归方程计算,结果: 0406004 含量为 0.15

mg/片、0412002 含量为 0.18 mg/片、0412003 含量为 0.17 mg/片、0506002 含量为 0.16 mg/片、0508003 含量为 0.15 mg/片、0508001 含量为 0.13 mg/片。

3 讨论

薄层扫描法存在前处理繁琐、重复性差等缺点。而在末端吸收,采用 HPLC-UV 法操作,要求黄芪甲苷的浓度较高($1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 以上),杂质峰干扰大,且重复性较差。但采用 HPLC-ELSD 法测定肾康宁片中黄芪甲苷的含量,则能很好地控制本品质量。

REFERENCES

- [1] Ch. P(2005) Vol I (中国药典 2005 年版. 一部)[S]. 2005: 212.

收稿日期:2006-09-04