

HPLC-ELSD测定爱可福颗粒中的黄芪甲苷

王小娟¹, 留良吾², 徐小岗³, 郑志宏³ (1.浙江省衢州学院, 浙江 衢州 324000; 2.浙江省衢州第二中学, 浙江 衢州 324000; 3.浙江天昊药业有限公司, 浙江 衢州 324002)

摘要: 目的 建立爱可福颗粒的定量质控方法。方法 采用 HPLC-ELSD 测定爱可福颗粒中黄芪甲苷的含量。结果 黄芪甲苷进样量在 0.64~20.48 μg 内呈良好的线性关系, 平均回收率为 97.78%, $\text{RSD}=1.12\%(n=6)$ 。结论 该方法简便, 重复性好, 可用于控制爱可福颗粒的质量。

关键词: HPLC-ELSD; 爱可福颗粒; 黄芪甲苷; 含量测定

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2010)09-0842-03

作者简介: 王小娟, 女, 讲师

Tel: 13857010317

E-mail: 897552141@qq.com

Determination of Astragaloside IV in Aikefu Granules by HPLC-ELSD

WANG Xiaojuan¹, LIU Liangwu², XU Xiaogang³, ZHENG Zhihong³(1.Zhejiang Quzhou College, Quzhou 324000, China; 2. Zhejiang Quzhou No.2 High School, Quzhou 324000, China; 3.Zhejiang Tinhao Pharmaceutical Co., Ltd., Quzhou 324002, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for the determination of astragaloside IV in Aikefu granules by HPLC-ELSD. **METHODS** The content of astragaloside IV was determined by HPLC-ELSD. **RESULTS** A good linearity was observed for astragaloside IV in the range of 0.64–20.48 μg . The average recovery of astragaloside IV was 97.78% with RSD=1.12%($n=6$). **CONCLUSION** The method is simple, accurate and reliable. It can be used for the quality control of granules.

KEY WORDS: HPLC-ELSD; Aikefu granules; astragaloside IV; content determination

爱可福颗粒处方来源于国家级名医何任的肿瘤患者中医经验方,由红参、黄芪、枸杞子、女贞子(酒蒸)等6味中药组成,具有益气健脾,滋养肝肾之功效,用于肿瘤患者化疗后引起的气阴两虚证,症见神疲乏力,少气懒言,五心烦热,口干咽燥等症及白细胞减少。其原标准中黄芪甲苷($\text{C}_{41}\text{H}_{68}\text{O}_{14}$)含量测定采用薄层扫描法,检验过程操作繁琐,重复性较差,为有效地控制药品的质量,本实验采用HPLC-ELSD,对处方中君药黄芪中的黄芪甲苷建立了含量测定的方法,方法简单可靠,重复性好,可以有效控制爱可福颗粒产品的质量。

1 仪器与试剂

岛津 SPD-10A 高效液相色谱仪(日本岛津), LC-10ATvp 泵; Alltech 2000 蒸发光散射检测器(美国奥泰公司); BT25-S 电子天平(德国赛多利斯); DL-360J 智能超声波清洗器(上海之信仪器有限公司); 黄芪甲苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号: 110781-200311, 供含量测定用)。乙腈、甲醇为色谱纯,水为去离子水,其余试剂均为分析纯;爱可福颗粒样品均由浙江天昊药业有限公司生产,规格为 $7.2\text{ g}\cdot\text{袋}^{-1}$,批号分别为: 20070809, 20070901, 20070903, 20070904, 20070905, 20070906, 20070907, 20070908, 20070909, 20070910, 20070911。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Phenomenex Luna-ODS 色谱柱($4.6\text{ mm}\times 250\text{ mm}$, $5\text{ }\mu\text{m}$); 流动相: 乙腈-水(35:65); 流速: $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 柱温: 室温; 进样量: $20\text{ }\mu\text{L}$ 。蒸发光散射检测器, 漂移管温度: $105\text{ }^{\circ}\text{C}$, 载气流速: $2.8\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ 。理论板数按黄芪甲苷峰计应不低于 4 000。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取黄芪甲苷对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含约 0.25 mg 的溶液,即得。

2.3 供试品溶液的制备

取本品 7 g ,研细,精密称定,加甲醇 100 mL 回流提取 2 次,每次 1 h ,将甲醇提取液放冷,滤过,合并滤液,蒸干,残渣用水 40 mL 溶解,加水饱和和正丁醇提取 3 次(依次为 $40, 20, 20\text{ mL}$),合并正丁醇提取液,用正丁醇饱和的氨试液洗涤 2 次(依次为 $60, 40\text{ mL}$),弃去氨洗液,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇分次溶解并定量转移至 5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得。

2.4 专属性试验

取除黄芪外等味药材经提取制成的颗粒剂,按“2.3”项下的提取方法提取作为阴性样品。取对照品,供试品及阴性样品按照“2.1”项下色谱条件进样测定,结果阴性样品对测定无干扰,见图 1。

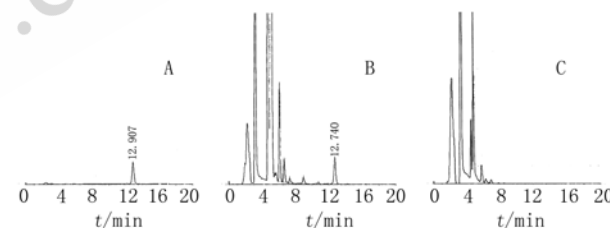


图 1 HPLC-ELSD 色谱图

A-对照品; B-样品; C-阴性样品

Fig 1 HPLC-ELSD chromatograms

A-reference; B-sample; C-negative sample

2.5 线性关系考察

精密称取在 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 真空干燥至恒重的黄芪甲苷对照品适量,配制成浓度分别为 $1.024, 0.512, 0.256, 0.128, 0.064, 0.032\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液,精密吸取上述溶液 $20\text{ }\mu\text{L}$ 进样,记录色谱峰面积,以对照品浓度($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)对数值为横坐标(X),对照品峰面积(A)积分值为纵坐标(Y),绘制标准曲线,

得黄芪甲苷的回归方程为 $Y=5\,342.9X-149\,229$, $r=0.999\,7(n=6)$, 实验表明黄芪甲苷进样量在 $0.64\sim20.48\,\mu\text{g}$ 内呈现良好的线性关系。

2.6 仪器精密度试验

取同一黄芪甲苷对照品溶液, 重复进样 6 次, 测定其峰面积, 结果 RSD%为 $1.29\%(n=6)$, 表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

取同一供试品溶液(20070809), 每隔 4 h 测定 1 次, 记录黄芪甲苷的峰面积, 结果 RSD 为 $1.43\%(n=6)$, 表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.8 重复性试验

取同一批号样品(20070809)6 份, 按“2.3”项下方法制备, 按“2.1”项下色谱条件测定, 结果黄芪甲苷平均含量为 $0.15\,\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 为 $1.80\%(n=6)$, 表明重复性良好。

2.9 加样回收率试验

表 2 样品含量测定结果

Tab 2 Determination of the content in sample

批 号	20070901	20070903	20070904	20070905	20070906	20070907	20070908	20090909	20090910	20090911
样品含量($\text{mg}\cdot\text{袋}^{-1}$)	1.33	1.13	1.03	0.94	1.03	1.12	1.09	1.21	1.29	1.13

3 讨论

薄层扫描法存在前处理繁琐、重复性差等缺点^[1]。而在末端吸收, 采用HPLC-UV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测定爱可福颗粒中黄芪甲苷的含量, 样品制备方法简便, 重复性好, 限度合理, 能很好地控制本品质量^[2]。

精密称取已知含量的样品(20070809)适量, 精密加入一定量的黄芪甲苷对照品, 按“2.1”项下色谱条件进行含量测定并计算回收率, 结果平均回收率为 97.78% , RSD%为 $1.12\%(n=6)$, 结果见表 1。

表 1 加样回收率试验($n=6$)

Tab 1 Results of recovery experiments($n=6$)

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/%
3.500 4	0.69	0.75	1.42	97.33		
3.501 6	0.71	0.75	1.43	96.00		
3.499 8	0.67	0.75	1.41	98.67		
3.500 2	0.70	0.75	1.44	98.67		
3.498 6	0.72	0.75	1.45	97.33		
3.503 2	0.75	0.75	1.49	98.67		

2.10 样品含量测定

取10批供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 采用标准曲线, 按外标两点法对方程计算, 结果见表2。

REFERENCES

[1] CONG X D, WEI Y J, MAO Q M, et al. Studies on quality standard of Yangzheng mixture [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2000, 17(1): 38-41.

[2] YU J P, FANG C F, TANG D F. Determination of Astragaloside IV in Shengkangning Pian by HPLC-ELSD [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2007, 24(5): 38-41.