

HPLC - ELSD 法测定欣力胶囊中黄芪甲苷的含量*

辛颖, 宋晓东, 刘哲, 张禅那, 惠汝太**

(中国医学科学院中国协和医科大学阜外心血管病医院

教育部心血管病基因与临床研究重点实验室 中德实验室, 北京 100037)

摘要 目的:建立欣力胶囊中黄芪甲苷的含量测定方法。**方法:**采用 HPLC - ELSD 法测定欣力胶囊中黄芪甲苷的含量, Agilent ZOBAX C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈 - 水(32:68), 流速为 1.0 mL · min⁻¹, 柱温 30 °C, ELSD 载气流速 2.5 L · min⁻¹。**结果:**黄芪甲苷在 2.57 ~ 12.85 μg 范围内有良好的线性关系($r=0.9997$), 平均回收率($n=6$)为 98.2%。测定了 3 个批次欣力胶囊中黄芪甲苷的含量, 其含量范围为 0.29 ~ 0.30 mg · 粒⁻¹。**结论:**该方法准确, 重复性好, 为欣力胶囊的质量控制提供了一种检测方法。

关键词:HPLC - ELSD 法; 黄芪甲苷; 欣力胶囊; 含量测定

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0254 - 1793(2008)04 - 0602 - 03

HPLC - ELSD determination of astragaloside IV in Xinli capsules*

XIN Ying, SONG Xiao - dong, LIU Zhe, ZHANG Chan - na, HUI Ru - tai**

(Department of Cardiology Key Laboratory for Clinical Cardiovascular Genetics, Ministry of Education & Sino - German Laboratory for Molecular Medicine, Cardiovascular Institute & FuWai Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100037, China)

Abstract Objective: To establish an HPLC - ELSD method for the determination of astragaloside IV in Xinli capsules. **Method:** HPLC system consisting of an Agilent ZOBAX C₁₈ column(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) and a mixture of acetonitrile - water (32:68) as the mobile phase was adopted and the flow rate was 1.0 mL · min⁻¹. The column temperature was set at 30 °C. The flow rate of carrier gas was 2.5 L · min⁻¹. **Results:** Astragaloside IV showed good linearity ($r=0.9997$) in the range of 2.57 - 12.85 μg. The average recovery ($n=6$) was 98.2%. Three batches of Xinli capsules were analyzed, and the content of astragaloside IV ranged from 0.29 - 0.30 mg per capsule. **Conclusion:** This method possesses merits of good accuracy and reproducibility. The method can be used for the quality control of Xinli capsules and validate the manufacture technology of Xinli capsules.

Key words: HPLC - ELSD; astragaloside IV; Xinli capsules; quantitative analysis

欣力胶囊由黄芪、丹参、制附子、茯苓、泽泻、葶苈子组成, 是我课题组在多年实践中探索出的经验方。临床应用结果表明, 该药具有明显改善患者心衰症状、逆转心肌肥厚的作用, 对充血性心力衰竭具有很好的治疗作用。黄芪为该处方的君药, 其所含黄芪甲苷为黄芪的主要有效成分, 具有抗氧化、扩张血管和冠状动脉、提高免疫力等生理活性^[1]。故以黄芪甲苷为指标, 参照 2005 年版中国药典, 测定样品中黄芪甲苷以控制样品中黄芪的含量。黄芪甲苷的含量测定有薄层扫描法^[2]、比色法^[3]、高效液相色谱法^[4]等, 本文参考文献[5, 6], 采用 HPLC -

ELSD 法测定欣力胶囊中黄芪甲苷的含量, 方法简便灵敏, 重复性好。通过方法学的系统考察和 3 批样品的含量测定, 建立了本品中该成分的含量测定方法。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 系列高效液相色谱仪; Alltech 2000 型蒸发光散射检测器; 色谱柱: Agilent ZOBAX C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 甲醇为色谱纯(天津康科德); 乙腈为色谱纯(进口 DIMA); 正丁醇为分析醇(国药集团化学试剂有限公司); 黄芪甲苷对照品(中国药品生物制品检定所, 781 - 200210); 欣力胶

* 国家自然科学基金(30640080)

** 通讯作者 Tel: (010)88398058; Fax: (010)68331730; E-mail: huirutai@sglab.org

囊(规格:0.45 g·粒⁻¹,0号胶囊,山东瑞友药品检测新技术开发咨询中心提供)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱为 Agilent ZOBAX C₁₈ (250 mm×4.6 mm,5 μm) 柱,流动相是乙腈-水(32:68),流速为 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30 ℃.;采用 ELSD,高纯氮气体流速 2.5 L·min⁻¹,漂移管温度 115 ℃。黄芪甲苷的保留时间约为 15 min。其他成分对测定没有干扰。见图 1。

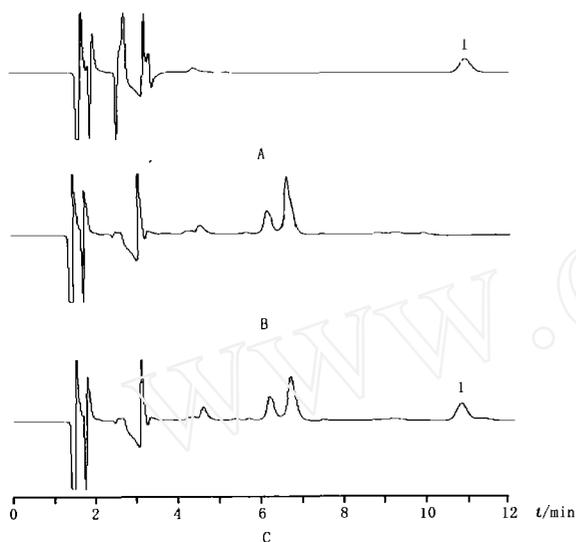


图 1 对照品(A)、阴性样品(B)和样品(C)的色谱图

Fig 1 Chromatograms of reference substance (A) negative sample without Radix Astragali(B) and sample(C)

1. 黄芪甲苷(astragaloside IV)

2.2 供试品溶液制备 参照中国药典,取装量差异项下的胶囊内容物 4 g,精密称定,置 100 mL 量瓶中,加入甲醇 70 mL,超声处理(40 HZ,250 W)30 min,放冷,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,精密量取续滤液 50 mL,蒸干,残渣加水 30 mL 分次溶解,转移至分液漏斗中,用水饱和的正丁醇提取 4 次,每次 30 mL,合并正丁醇提取液,用浓氨溶液洗涤 2 次,每次 30 mL,弃去洗涤液,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,即得。

2.3 阴性样品的测定 取阴性样品(除黄芪外,其余按本品处方比例称取适量,依照制备工艺制成阴性模拟制剂)约 4 g,精密称定,按“2.2”项下方法制备,即得阴性样品溶液。进样 10 μL,按上述色谱条件测定。结果见图 1。阴性样品在黄芪甲苷峰相应位置无干扰。

2.4 线性关系的考察 精密称取黄芪甲苷对照品

5.14 mg,加甲醇溶解并定容至 10 mL,即得对照品溶液。精密吸取此溶液 5,10,15,20,25 μL,分别注入高效液相色谱仪,测其峰面积积分值,以峰面积的自然对数为纵坐标,浓度的自然对数为横坐标,计算回归方程。结果:

$$Y = 1.4616X + 5.5263 \quad r = 0.9997$$

进样量在 2.6~12.8 μg 范围内,其自然对数与峰面积积分值的自然对数呈良好线性关系。

2.5 精密度试验 取对照品溶液 10 μL,连续进样 5 次,测定峰面积积分值,计算峰面积积分值的自然对数及其平均值,得出 RSD 值为 0.49%,表明本法精密度良好。

2.6 稳定性试验 取供试品溶液,在 8 h 内分别进样 5 次(0,1,2,4,8 h),测定峰面积积分值,计算峰面积积分值的自然对数及其平均值,得到 RSD 为 0.22%,试验结果显示供试品溶液在 8 h 内稳定性良好。

2.7 重复性试验 取批号为 041201 的样品 5 份,按“2.2”项下方法制备溶液,依法测定,黄芪甲苷的平均含量为 0.291 mg·粒⁻¹,RSD 为 0.65%,结果表明该方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验 取批号为 041201(含量为 0.291 mg·粒⁻¹)的样品 2 g,共 6 份,精密称定,分别置于 100 mL 量瓶中,加入对照品溶液(黄芪甲苷对照品 20.76 mg,加甲醇至 50 mL)5 mL,依法测定,并计算黄芪甲苷的平均回收率为 98.2%,RSD 为 0.65%,表明本法的加样回收率良好。

2.9 样品测定 对 3 批样品进行测定,以外标工作曲线法测定含量。结果批号为 041201,041202,041203 样品中黄芪甲苷含量(n=2)分别为 0.292,0.304,0.295 mg·粒⁻¹。

3 讨论

对于样品的提取纯化方法,本文曾对超声及回流提取进行比较,结果以超声提取法最为理想。取不含黄芪的阴性样品,照正文方法进行试验,结果,阴性样品在与对照品峰保留时间相同的位置,无干扰峰出现。

参考文献

- 1 ChP(中国药典).2005. Vol I(一部):212
- 2 LU Jing(鲁静),WANG Bao-qin(王宝琴). Determination of astragaloside IV by TLCS(黄芪甲苷的薄层扫描法测定). *Chin Tradit Pat Med(中成药)*,1992,14(6):34
- 3 LU Yi-xiu(陆一心). Study on the determination of astragaloside by colorimetric method(黄芪甲苷定量方法的研究). *Chin Tradit Pat*

- Med(中成药), 1996, 18(2):38
- 4 FU Tie-jun (付铁军), LI Bo-gang (李伯刚), JI Yuan-qiao (及元乔), *et al.* Determination of astragaloside IV in Hangqi injection by HPLC(高效液相色谱法测定黄芪注射液中黄芪甲甙的含量). *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 1997, 9(4):53
- 5 ZHAO Ling-zhi (赵灵芝), ZHU Dan-ni (朱丹妮), YAN Yong-qing (严永清). Determination of astragaloside IV in Radix Astragali by HPLC-ELSD(HPLC-ELSD法测定黄芪中黄芪甲甙的含量). *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 1999, 19(6):403
- 6 ZHAO Lu-hua (赵陆华), WU Meng-hua (吴孟华), SHAN Zhen(单臻), *et al.* HPLC-ELSD Determination of Astragaloside IV in Shenbao tablets and in-process materials(高效液相色谱-蒸发光散射检测器法测定肾宝片及其中间体中黄芪甲甙的含量). *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 2005, 25(9):1009
- (本文于2007年9月25日修改回)

王军志副所长接待古巴国家药品控制中心代表团

2008年3月28日,中国药品生物制品检定所王军志副所长、生检处李凤祥处长、重组技术产品室饶春明主任和菌种室叶强副主任等接待了以监督控制检验司副司长丽亚娜·费盖拉丝·费拉德丝博士为团长的古巴国家药品控制中心代表团一行四人。王副所长首先对代表团的来访表示热烈的欢迎,接着向代表团介绍了中检所的主要职能和职责,并肯定中检所与古巴国家药品控制中心的前期合作。丽亚娜·费盖拉丝·费拉德丝博士对中检所多年来的支持和帮助表示感谢,古巴国家药品控制中心的职能和职责与中检所相似,有很多领域存在合作前景,同时希望进一步得到中方的支持和帮助。会谈结束后,在李凤祥处长等人的陪同下参观了中检所重组技术产品室和菌种室。代表团对中检所实验室条件、科研工作、检定业务工作表示赞赏,并就感兴趣的问题与中检所相应的业务科室进行了探讨。



有关内容请访问:<http://www.nicpbp.org.cn>