

高效液相色谱蒸发光散射检测器测定新血宝胶囊中黄芪甲苷含量

徐新军¹, 胡海燕¹, 王珊², 郭鑫霆¹

(1. 中山大学药学院, 广州 510080; 2. 广州陈李济制药厂, 广州 510290)

摘要 目的: 建立高效液相色谱蒸发光散射检测器测定新血宝胶囊中黄芪甲苷含量的方法。方法: 采用菲罗门 C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 以乙腈-水 (37: 63) 为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 35℃, 漂移管温度为 80℃, 气流 (压缩空气) 压力 315 Pa。结果: 黄芪甲苷进样量在 0.79~10.48 μg 范围内呈良好线性关系 ($r=0.9998$), 平均加样回收率为 98.2% ($n=6$)。结论: 本法操作简便, 重复性好, 灵敏度高, 可有效控制新血宝胶囊中黄芪甲苷含量。

关键词: 新血宝胶囊; 黄芪甲苷; 高效液相色谱-蒸发光散射检测器

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)02-0292-03

HPLC-ELSD determination of astragaloside IV in Xinxuebao capsules

XU Xin-jun¹, HU Hai-yan¹, WANG Shan², GUO Xin-ting¹

(1. School of Pharmaceutical Science, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China

2. Guangzhou Chen Li Ji Pharmaceutical Factory, Guangzhou 510290, China)

Abstract Objective To establish an HPLC-ELSD method for the determination of astragaloside IV in Xinxuebao capsules. **Method** Phenomenex C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column was used. The mobile phase consisted of acetonitrile-water (37: 63) and the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, ELSD was used as the detector. **Results** Astragaloside IV has a good linear relation in the range of 0.79-10.48 μg ($r=0.9998$), the average recovery ($n=6$) was 98.2%. **Conclusion** The method is rapid, sensitive and accurate. It can be used for the quality control of Xinxuebao capsules.

Key words Xinxuebao capsules; astragaloside IV; HPLC-ELSD

新血宝胶囊由黄芪、当归、鸡血藤、白术、陈皮、大枣、硫酸亚铁制成, 收载在《卫生部药品标准》中成药成方制剂第 13 册^[1], 该方具有补气、健脾和胃的功效, 用于治疗痔疮出血、月经过多、偏食等原因引起的缺铁性贫血。原标准只有鸡血藤、陈皮、当归的薄层鉴别以及白术的显微鉴别、硫酸亚铁的比色法测定, 黄芪作为本方的君药, 既无鉴别也无含量测定。已知黄芪甲苷为黄芪的有效成分, 已报道的测定黄芪甲苷的方法有薄层色谱法^[2]、紫外末端检测高效液相色谱法^[3]及蒸发光散射检测高效液相色谱法^[4,5]。黄芪甲苷的紫外吸收为末端吸收, 干扰大, 灵敏度低, 薄层色谱法测定含量误差较大, 中国药典中已较少采用, 相比较而言, 蒸发光散射检测器已越来越多地用于没有紫外吸收的中药成分定量。为了有效控制新血宝胶囊的内在质量, 本文建立了

高效液相色谱蒸发光散射检测器测定新血宝胶囊中黄芪甲苷含量的方法, 该法简便、准确, 重复性好, 可用于新血宝胶囊的质量控制。

1 仪器与试剂

Waters 1525 双泵; Waters 717 自动进样器; Waters 2487 双波长检测器; Waters Breeze 色谱工作站; Sedex 75 蒸发光散射检测器 (Dikma Technologies 公司); 空气压缩机。

黄芪甲苷对照品, 中国药品生物制品检定所提供 (批号: 110781-200512); 不同批号新血宝胶囊 (规格: 0.25 g·粒⁻¹) 由广州陈李济制药厂提供。

甲醇、正丁醇、氨水等均为分析纯, 乙腈为色谱纯, 水为超纯水。

2 实验方法与结果

2.1 色谱条件 菲罗门 C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm × 250

mm, 5 μm); 流动相: 乙腈 - 水 (37: 63); 流速: 1.0 mL · min⁻¹; 柱温: 35 °C; ELSD 检测器参数: 漂移管温度为 80 °C; 气流 (压缩空气) 压力: 315 Pa

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取五氧化二磷减压干燥至恒重的黄芪甲苷对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.3 mg 的溶液, 即得。

2.2.2 供试品溶液 取本品 20 粒, 除去囊壳, 粉末混匀, 取约 4 g 精密称定, 置索氏提取器中, 加甲醇 30 mL, 冷浸过夜, 再加甲醇 40 mL, 回流 4 h, 提取液回收甲醇并浓缩至干, 残渣加水 15 mL, 微热使溶解, 用水饱和的正丁醇振摇提取 4 次, 用量依次为 40, 30, 30, 20 mL, 合并正丁醇提取液, 用氨试液提取 2 次, 每次用量 20 mL, 弃去氨液, 蒸干正丁醇液, 残渣加甲醇微热约 40 °C, 分次溶解并转移至 10 mL 量瓶内, 冷至室温, 加甲醇至刻度, 摇匀, 微孔滤膜过滤, 即得。

2.2.3 阴性对照样品溶液 取不含黄芪药材的处方其他药材, 按照相同工艺制得阴性对照样品, 再按上述供试品溶液制备方法, 制得阴性对照样品溶液。

2.3 色谱系统性试验 按“2.1”项下色谱条件, 将对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各进样 20 μL, 测定, 记录其色谱图, 结果见图 1。以黄芪甲苷计, 理论塔板数不低于 8000

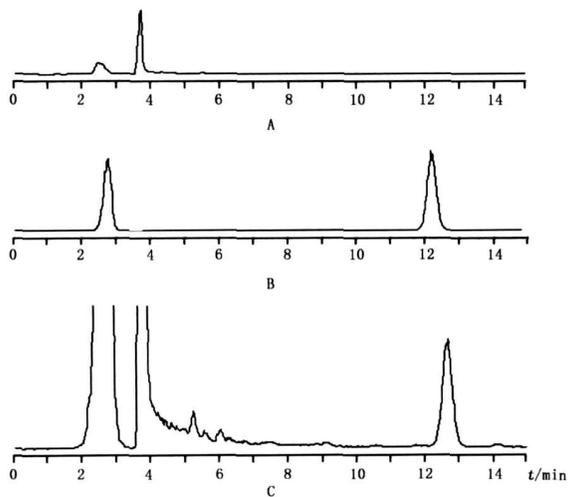


图 1 新血宝胶囊 HPLC-ELSD 图

Fig 1 HPLC-ELSD chromatograms of Xinxuebao capsules

A. 阴性样品 (negative sample without Radix Astragali) B. 对照品 (reference substances) C. 新血宝胶囊 (Xinxuebao capsules)

2.4 线性关系考察 精密吸取 0.262 mg · mL⁻¹ 对照品溶液 3, 5, 10, 15, 20, 30, 40 μL 进样, 测定, 以进样质量的常用对数值为横坐标, 峰面积的常用对数

值为纵坐标进行线性回归, 线性范围 0.79~ 10.48 μg 回归方程为:

$$\lg A = 1.428 \lg W + 5.187 \quad r = 0.9998$$

2.5 进样重复性试验 取供试品溶液, 连续进样 6 次, 测定峰面积, 黄芪甲苷峰面积平均值为 1864115, RSD 为 1.8%。

2.6 稳定性试验 同一供试品溶液, 分别于 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9 h 进样, 测定峰面积, 计算峰面积平均值为 1857149, RSD 为 1.2%, 表明供试品溶液在 9 h 内稳定。

2.7 重复性试验 取同一批号 (批号: B05001) 样品粉末约 4 g 精密称定, 共 6 份, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 分别测定含量, 计算本批样品含量平均值为 0.4939 mg · g⁻¹, RSD 为 1.8% (n = 6)。

2.8 加样回收率试验 取已知含量的新血宝胶囊 (批号: B05001) 粉末 2 g 精密称定, 共取 6 份, 平均分为 3 组, 每组分别精密加入 262 μg · mL⁻¹ 对照品溶液 3.00, 3.50, 4.00 mL, 照“2.2.2”项下供试品溶液制备方法制备供试液, 低、中、高 3 个加入量的回收率 (n = 2) 分别为 96.1% (偏差为 1.3), 99.1% (偏差为 0.7), 99.3% (偏差为 1.2), 平均回收率 (n = 6) 为 98.2%。

2.9 样品测定 同一批号样品分别取 3 份, 按“2.2.2”项下方法分别制备供试品溶液。精密吸取 262 μg · mL⁻¹ 对照品溶液 10 μL 及 20 μL 供试品溶液 20 μL, 注入液相色谱仪, 测定, 以外标两点法对数方程计算, 即得。结果见表 1。

表 1 样品含量测定 (n = 3)

Tab 1 Determination of samples

批号 (Lot No.)	含量 (content) / mg · g ⁻¹	RSD / %
SMO 03003	0.481	2.5
SKN 4004	0.845	2.1
B06001	0.800	0.9
B06002	0.619	1.8
T05011	0.692	1.7
B05001	0.494	1.8
B05004	0.516	2.3
SKN 04003	0.624	0.6
SKN 04002	0.564	0.8
B05005	0.464	2.6

3 讨论

根据本品处方中 1 g 样品内容物含相当 1 g 黄芪药材, 参照 2005 年版中国药典黄芪药材含量测定项下的取样量, 样品称取量为 4 g 为了减少提取过程中的损失, 选择第一次用较大体积水饱和正丁醇

提取,以后递减的方法;另外由于提取液挥干是在一较大体积的蒸发皿中进行,如用 5 mL 甲醇多次洗涤定容,会由于转移不完全引起较大误差,故选用 10 mL 甲醇洗脱定容。另提取挥干的残留物用 15 mL 热水溶解转移时,为使转移完全,用第一次加入的正丁醇洗涤残留物,一并转移入分液漏斗。

本文在文献^[6]的流动相基础上,优化了漂移管的温度和载气压力。实验表明漂移管的温度及载气压力对测得的峰面积有影响,载气压力对峰面积的影响值呈负的线性相关,为了提高测定的灵敏度,在保证溶剂完全能挥发的前提下,应选择较低的载气压力。

参考文献

1 The Chinese Herbal Medicine Product Specifications Promulgated by Health Department Vol 13(卫生部药品标准中成药成方制剂第 13 册), 1997: 216

- 2 LI Sheng-you(李生有). Determination of astragaloside IV in vitamins with minerals pills by TLCs(双波长薄层扫描法测定益心康泰胶囊中黄芪甲苷含量). *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2006, 28(12): 1855
- 3 SHENG Jia-rong(盛家荣). Determination of astragaloside IV in Shi-wu-wei-Qi-xue-Shuang-bu oral liquid by HPLC (HPLC 测定五味气血双补口服液黄芪甲苷的含量). *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2006, 28(11): 1690
- 4 WU Yu-qiang(吴玉强), LUO Yi(罗轶). Determination of astragaloside IV in *Euonymus fortunei* compound mixture by HPLC-ELSD (HPLC-ELSD 法测定复方扶芳藤合剂中黄芪甲苷). *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2006, 37(9): 3531
- 5 XIONG Long-hua(熊龙花), ZHU Jun-yan(朱俊彦). Determination of astragaloside IV in Buzhong Yiqi Wan (concentrated pills) by HPLC-ELSD (HPLC-ELSD 测定补中益气丸(浓缩丸)中黄芪甲苷的含量). *Chin J Med Appl Pharm* (中国现代应用药学杂志), 2006, 23(9): 909
- 6 ChP(中国药典), 2005. Vol I (一部): 212
(本文于 2007 年 12 月 12 日收到)

本刊论文荣获第六届中国科协期刊优秀学术论文三等奖

发表在《药物分析杂志》2007 年第 27 卷第 7 期,由中国药品生物制品检定所等单位的李佐刚、李晶、闻隰、汤瑶、袁玲、王晓玲、王秀文、王军志、李波同志撰写的论文“重组人 125I-CTLA 4Ig 在大鼠体内吸收、组织分布及排泄的药代动力学研究”荣获第六届中国科协期刊优秀学术论文三等奖。

本次评选由 122 个全国学会组织专家评审,中国科协优秀学术论文评审委员会进行论文审核和等级评定,共评出优秀学术论文 471 篇,其中一等奖 50 篇,二等奖 150 篇,三等奖 271 篇。

《药物分析杂志》编辑部