

HPLC 法测定益气生津口服液中黄芪甲甙的含量

王静竹 任天池(北京中医药大学中药学院 北京 100029)

摘要 用 HPLC 法,以乙腈-水(1:2.3)为流动相,203nm 为检测波长,对益气生津口服液中黄芪甲甙含量进行了测定。其保留时间为 18.56min。回收率、精密度等均达到定量要求。

关键词 黄芪甲甙 HPLC

Determination of the Astragaloside IV in Yiqi Shengjin Oral Liquid by HPLC

Wang Jingzhu, Ren Tianchi

(Faculty of Chinese Pharmacy, Beijing University of TCM, Beijing, 100029)

Abstract: A HPLC method was described for determining the astragaloside IV in Yiqi Shengjin oral liquid. Using R-p HPLC at 203nm with acetonitrile-water(1:2.3) as a mobile phase, the retention time was 18.56 minutes with an average recovery of 98.0% and RSD 1.86%.

Key words: astragaloside IV, HPLC

益气生津口服液为中药制剂,由黄芪,丹参、玉竹、焦山楂等组成。方中以黄芪为君药,具有益气生津、滋阴活血之功。黄芪甲甙为黄

芪的活性成分之一,其测定方法一般采用薄层扫描法^[1],HPLC 法仅见于测定黄芪药材^[2],而测定中成药中黄芪甲甙含量未见报

道。本文建立了测定益气生津口服液中黄芪甲甙的 HPLC 法,可作为该制剂的质控方法。

1 仪器与材料 仪器:Waters 高效液相色谱仪,510 型泵,490E 型紫外检测器,745 型数据处理仪。对照品:黄芪甲甙购自中国药品生物制品检定所。样品:益气生津口服液为本院制剂室提供。试剂:乙腈为色谱纯,甲醇,正丁醇为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱为 YWG-C₁₈ 柱 (3.9mm×250mm,10μm),柱温为室温,流动相为乙腈-水(1:2.3),流速为 1.2ml/min,检测波长为 203nm,灵敏度为 0.08AUFS。

2.2 标准曲线的绘制 精密称取黄芪甲甙对照品 4.30mg,以甲醇溶解并定容于 10ml 容量瓶中。分别吸取此溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0ml,用甲醇稀释并定容于 1ml 容量瓶中。进样 10μl,按上述色谱条件测定。以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标绘制工作曲线,回归方程为 $Y=9232.13x+505.69$, $r=0.9995$ 。线性范围为 0.86~4.30μg。

2.3 精密度实验 吸取黄芪甲甙对照品溶液,进样 15μl,连续 5 次,测定峰面积,分别为 298799、309985、317251、306739、309404、308436,其 RSD 为 1.93%。

2.4 空白试验 按原处方,不加黄芪,其它药按原工艺制备阴性液样品,样品处理及测定操作同样品测定项下方法。由阴性液色谱图可见,在黄芪甲甙色谱峰的保留时间处,阴性液无干扰。

2.5 回收率实验 精密吸取已测黄芪甲甙含量的口服液样品(0.2960mg/ml)5ml,5 份。分别准确加入黄芪甲甙对照品溶液(0.997mg/ml)1.5ml,水 3.5ml,按样品测定项下方法操作,结果见附表。

2.6 稳定性实验 精密吸取样品,按样品测定项下方法操作,每间隔 2.5h 进样 1 次,10h 内共进样 5 次,计算其含量分别为(mg/ml):

附表 回收率实验结果

样品中黄芪甲甙含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	\bar{x} (%)	RSD(%)
1.4800	1.4955	2.9172	96.1		
1.4800	1.4955	2.9695	99.6		
1.4800	1.4955	2.9351	97.3	99.5	2.9
1.4800	1.4955	3.0263	103.4		
1.4800	1.4955	2.9934	101.2		

0.2405、0.2595、0.2509、0.2618,其 RSD 为 3.38%。黄芪甲甙在 10h 内基本稳定。

2.7 重现性实验 精密吸取同一批样品 5 份,按样品测定项下方法操作,计算含量(mg/ml)分别为 0.3086、0.2934、0.3107、0.2860、0.2978,RSD 为 3.46%。

2.8 样品测定 精密吸取样品 10ml 于分液漏斗中,用水饱和正丁醇萃取(10ml×3+5ml×3),正丁醇层用 1%NaOH 溶液洗涤(5ml×2 次),再用正丁醇饱和水洗至中性。回收正丁醇,残渣用甲醇溶解,并定容于 2ml 容量瓶中。用微孔滤膜过滤后,进样 10μl,按上述色谱条件测定,由回归方程计算含量。测定 4 批样品含量分别为(mg/ml):0.2524、0.2993、0.2960、0.2417。

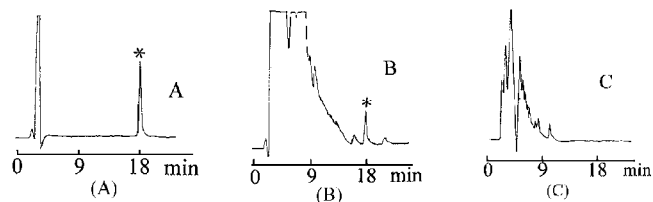
3 讨论

3.1 前处理方法 本文针对本制剂采用了几种前处理方法进行比较,结果表明,仅用丁醇萃取,样品本底高,无法识别黄芪甲甙峰。碱液处理后可以分离、测定,而无需吸附等处理步骤。笔者对该制剂采用薄层扫描法测定时,前处理中必须加入 MgO 处理步骤,否则背景太深,无法准确扫描。因此 HPLC 法可使前处理步骤简化一些。

3.2 测定波长的选择 因黄芪甲甙在 201nm 左右末端吸收,本文在 201、203、205、210nm 处进行比较试验。若波长稍长,可使基线噪音降低,但同时黄芪甲甙检测灵敏度也降低很多。若波长短(如 201nm),虽可获得较高的检测灵敏度,但所用仪器检测器在 201nm 处基线噪音大。在使基线噪音较小,

又尽量提高检测灵敏度的前提下,本实验选择 203nm 为测定波长。紫外检测器性能优良是用 HPLC 法(UV 检测)测定黄芪甲甙成功的关键。

3.3 流动相的选择 因黄芪甲甙需在 201nm~203nm 波长检测,流动相应选择在此区域无吸收的试剂,所以选用乙腈与水。实验时流动相纯度极为重要,乙腈为色谱纯,水为新鲜制备的超纯水。流动相中乙腈与水的比例应准确控制,分离效果及保留时间对流动相比例变化(如不是一次配制)极为敏感,水的比例增大可使保留时间延长。依实验结果,本实验选择乙腈-水(1:2.3)为流动相。



附图:A、黄芪甲甙对照品色谱图 B、样品色谱图 C、阴性液色谱图

* 为黄芪甲甙色谱峰,保留时间为 18.56min。

参考文献

- 1 王宝琴,苏健,鲁静. 黄芪甲甙的检测在中药质控中的应用. 中国中药杂志,1996,21(3):161
- 2 原田正敏. 繁用生药的成分定量. 日本:广川书店,1991. 34

(收稿:1998-03-26)