

HPLC-ELSD 法测定健脾益肾胶囊中黄芪甲苷的含量

聂颖兰, 范斌, 郭娜, 彭娟, 闫寒*

(中国中医科学院医学实验中心, 北京 100700)

[摘要] 目的: 建立健脾益肾胶囊中黄芪甲苷的 HPLC-ELSD 含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法对健脾益肾胶囊中的黄芪甲苷含量进行测定。Diamondsil C₁₈(2) 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水(33:67), 等度洗脱, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 35 °C, 漂移管温度 105 °C, 空气流速 2.7 L·min⁻¹。结果: 黄芪甲苷在进样量 1.985 ~ 11.91 μg 峰面积的自然对数与进样量的自然对数线性关系良好($r=0.9996$), 平均加样回收率 101.0%, RSD 2.5% ($n=6$)。结论: 方法简便快捷, 适于该制剂的中黄芪甲苷的含量测定。

[关键词] 黄芪甲苷; 高效液相色谱法; 健脾益肾胶囊; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0130-03

[doi] 10.11653/syfy2013170130

Determination of Astragaloside IV in Jianpi Yishen Capsules by HPLC-ELSD

NIE Ying-lan, FAN Bin, GUO Na, PENG Juan, YAN Han*

(Experimental Research Center, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To establish HPLC-ELSD method for assay of astragaloside IV in Jianpi Yishen Capsules. **Method:** The content of astragaloside IV was determined by a HPLC method. The Diamondsil C₁₈(2) column was used. The mobile phase was acetonitrile-water (33:67) with 1.0 mL·min⁻¹ flow rate at 35 °C. The temperature of drift tube for ELSD was set at 105 °C, the air flow rate was 2.7 L·min⁻¹. **Result:** The linear range of astragaloside IV was 1.985-11.91 μg ($r=0.9991$). The average recovery was 102.0% (RSD 2.5%). **Conclusion:** The method is simple and quick. It can be used as determination method of astragaloside IV in Jianpi Yishen Capsules.

[Key words] astragaloside IV; HPLC; Jianpi Yishen Capsules; determination

健脾益肾胶囊为医院自制制剂, 该方由黄芪、女贞子、太子参等多味药材制成的中药复方制剂^[1-4], 可用于脾肾不足、气血瘀滞并感毒邪引起的皮肤病及红斑狼疮、皮肤炎、硬皮病等结缔组织病。本文采用高效液相色谱蒸发光检测器法测定健脾益肾胶囊中黄芪甲苷的含量^[5-7]。

1 材料

Agilent 1200 型高效液相色谱仪(G1311A 四元

泵, G1329A 自动进样器, G1316A 柱温箱, Agilent chemstation 化学工作站, 美国 Agilent 公司), Alltech ELSD 2000 型蒸发光散射检测器, 超纯水处理器(德国 Sartorius 公司 arium® 61316/611VF), BT25S 型、BT423S 型分析天平(德国 Sartorius 公司), Anke TDL-5-A 型离心机(上海安亭科学仪器厂)。

乙腈(北京迪科马科技有限公司, 色谱纯), 无水乙醇(北京化工厂, 分析纯), 超纯水为自制。黄芪甲苷(批号 110781-200613), 购自中国药品生物制品检定所。健脾益肾胶囊(批号 100401, 100402, 100403), 由北京市朝阳区双安医院提供。

2 含量测定

2.1 色谱条件 Diamondsil C₁₈(2) 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 乙腈-水(33:67)为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 35 °C, 进样量 20 μL, 蒸发光

[收稿日期] 20120709(004)

[第一作者] 聂颖兰, 硕士, 助理研究员, 从事中药分析及体内药物分析研究, Tel: 010-64014411-3324, E-mail: nyl100@163.com

[通讯作者] * 闫寒, 主管技师, 从事中药质量控制研究, Tel: 010-64014411-3324, E-mail: yanhanarrow@163.com

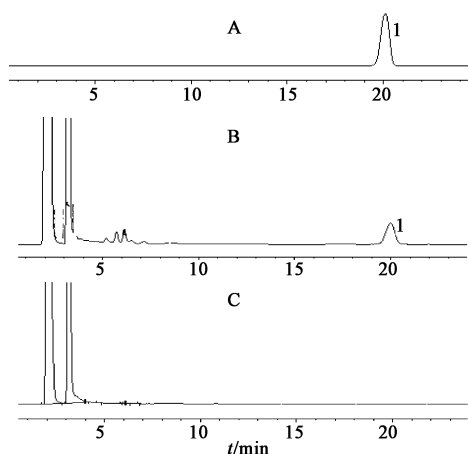
散射检测器,漂移管温度 105 ℃,空气流速 2.7 L·min⁻¹。

2.2 对照品溶液制备 称取黄芪甲苷对照品适量,精密称定,于 5 mL 量瓶中,以甲醇为溶剂定容,制成每 1 mL 含黄芪甲苷 3.97 mg 的储备溶液,备用。

2.3 供试品溶液的制备 取胶囊内容物 2 g,精密称定,置具塞三角瓶中,精密加入无水乙醇 20 mL,称重,超声提取 20 min,放置室温,补重,离心 10 min (4 000 r·min⁻¹),精密吸取上清液 10 mL 旋转蒸发至干,加 5 mL 水溶解,转移至分液漏斗中,用水饱和正丁醇振荡提取 4 次,每次 20 mL,合并正丁醇液,用氨试液洗涤 2 次,每次 20 mL,弃去氨试液,正丁醇液蒸干,用甲醇溶解并转移至 1 mL 量瓶中,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液即得^[8-10]。

2.4 阴性供试品溶液的制备 按处方比例取除黄芪外的其他药材,以相同工艺制备,按 2.3 项下方法制成缺黄芪的阴性供试品溶液。

2.5 专属性试验 取黄芪甲苷对照品溶液,供试品溶液,阴性供试品溶液分别注入 HPLC 测定,记录色谱图。供试品色谱图中,在与对照品相应的位置上,有一相同保留时间的色谱峰,阴性供试品溶液无干扰,见图 1。



A. 对照品;B. 供试品;C. 阴性供试品,1. 黄芪甲苷

图 1 黄芪甲苷 HPLC 色谱

2.6 线性关系考察 称取干燥至恒重的黄芪甲苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含黄芪甲苷 3.97 mg 的储备溶液。精密吸取储备溶液适量,以甲醇为溶剂,配制黄芪甲苷的 397.0 mg·L⁻¹ 对照品溶液,精密吸取该黄芪甲苷对照品溶液 5, 10, 15, 20, 25, 30 μL 测定,以对照品进样量的自然对数为横坐标,以对照品峰面积的自然对数为纵坐标,绘制标准曲线。黄芪甲苷线性范围 1.985 ~

11.91 μg, 回归方程 $Y = 1.777 4X + 5.338$ ($r = 0.999 6$)。

2.7 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液(批号 100401)20 μL,在所确定的 HPLC 条件下,重复进样 6 次,求得 ln 峰面积平均值为 7.902 5, RSD 0.3%。

2.8 稳定性考察 精密吸取同一供试品溶液(批号 100401)20 μL,分别于 0, 2, 4, 6, 8, 24 h 依次进样,测得 ln 峰面积平均值为 7.929 3, RSD 1.3%,表明样品在 24 h 内稳定。

2.9 重复性试验 取同一批样品按 2.3 项下方法平行制备 6 份供试品溶液,在所确定的 HPLC 条件下进行测定,以外标两点法计算样品含量,结果平均含量 218.846 2 μg·g⁻¹, RSD 2.7%,表明方法重复性良好。

2.10 加样回收率试验 采用加样回收法,称取 6 份已知含量同一批号(批号 100401,黄芪甲苷 218.846 2 μg·g⁻¹)样品各 2 g,精密称定。分别精密加入黄芪甲苷对照品适量,按 2.3 项下供试品溶液的制备方法制备及上述色谱条件测定,计算回收率,结果见表 1。

表 1 黄芪甲苷加样回收率试验

No.	样品中量 /μg	测得总量 /μg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	438.239 5	911.877 8	99.5		
2	438.480 2	912.546 1	99.59		
3	438.458 4	929.120 2	103.1		
4	439.399 4	940.664 1	105.3	101.0	2.5
5	438.195 7	913.162 3	99.8		
6	438.414 6	909.029 8	98.9		

注:加入量均为 476 μg。

2.11 样品含量测定 分别取 3 批样品,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,按外标两点法计算供试品的黄芪甲苷的含量,分别为 221.976 2, 292.520 4, 250.494 7 μg·g⁻¹。

3 讨论

参照药典及有关资料考查了甲醇、无水乙醇提取,结果显示甲醇与无水乙醇提取差别不显著,考虑到无水乙醇毒性较小,对环境污染小,以无水乙醇提取为佳。考察了不同超声时间对提取效果的影响,结果提取 20 min 可提取完全。

黄芪甲苷极性较大,仅有末端吸收,吸收波长 200 nm,易受试剂的干扰,流动相种类受到限制,亦无专一显色剂,使用紫外检测法存在一定不足。故

炮制辅料吴茱萸汁的质量标准

韩旭阳^{1,2}, 边宝林¹, 李娆娆^{1*}, 王智民¹, 闫利华¹, 麻印莲¹, 方婧¹

(1. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700; 2. 北京市中医研究所, 北京 100010)

[摘要] 目的: 建立吴茱萸汁的质量标准。方法: 采用薄层色谱法(TLC)对吴茱萸汁进行定性鉴别, 采用高效液相色谱法测定吴茱萸内酯、吴茱萸碱、吴茱萸次碱的含量, Agilent C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 乙腈-水-四氢呋喃-冰醋酸(40:60:1:0.2)为流动相, 流速 1 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C, 吴茱萸内酯、吴茱萸碱检测波长为 225 nm、吴茱萸次碱检测波长为 343 nm。结果: 薄层鉴别专属性强, 重复性良好。吴茱萸内酯、吴茱萸碱和吴茱萸次碱分别在 0.12 ~ 8.10 ($r=0.999\ 9$), 0.028 ~ 1.80 ($r=0.999\ 8$), 0.012 ~ 0.75 μg ($r=0.999\ 9$) 线性关系良好。平均回收率和 RSD 依次为 101.49%, 2.21%; 102.65%, 1.51%; 100.47%, 2.42% ($n=6$)。结论: 方法简便, 可靠, 可操作性强, 适用于吴茱萸汁炮制辅料的质量控制。

[关键词] 吴茱萸汁; 薄层色谱; 高效液相色谱仪; 质量标准

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0132-04

[doi] 10.11653/syfy2013170132

Quality Standard for Evodiae Juice, an Adjuvant Material of Processing

HAN Xu-yang^{1,2}, BIAN Bao-lin¹, LI Rao-rao^{1*}, WANG Zhi-min¹, YAN Li-hua¹, MA Yin-lian¹, FANG Jing¹

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

2. Beijing Institute of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100010, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the quality standard for Evodiae juice, an adjuvant material of

[收稿日期] 20130118(004)

[基金项目] 北京市自然科学基金项目(7112097); 中国中医科学院自选课题(ZZ2006096)

[第一作者] 韩旭阳, 硕士, 从事中药饮片质量标准研究, E-mail: rubyhxy@163.com

[通讯作者] *李娆娆, 博士, 副研究员, 从事中药炮制研究, Tel: 010-64014411-2975, E-mail: leeraorao@163.com

采用了高效液相色谱-蒸发光散射检测器法, 该方法无干扰, 重复性好, 且灵敏稳定, 适用于养血益肾胶囊中黄芪甲苷的含量测定。

[参考文献]

- [1] 邱勇波, 刘锦, 武飞. 黄芪化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国疗养医学, 2011, 20(5): 435.
- [2] 李发美, 熊志立, 鹿秀梅, 等. 中药质量控制的研究策略和色谱技术[J]. 色谱, 2006, 24(6): 537.
- [3] 王慧森, 刘明, 李更生. 高效液相色谱-蒸发光散射检测法在中药研究中的应用[J]. 中医研究, 2008, 21(8): 61.
- [4] 杨胜, 张定堃, 苏柘僮, 等. 中药复方制剂质量控制的研究[J]. 中国医药生物技术, 2010, 5(5): 387.
- [5] 张莲珠, HPLC 测定黄芪甲苷概况[J]. 中成药, 2005,

27(5): 587.

- [6] 李代晓, 吕英超, 李云霞. 高效液相色谱蒸发光散射检测器测定复方石韦片中黄芪甲苷含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(10): 93.
- [7] 陈洪英, 刘显峰. 老年咳喘片的质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(10): 80.
- [8] 潘涛, 文晓柯, 欧阳波, 等. 胎乐颗粒中黄芪甲苷的提取工艺研究[J]. 中医药导报, 2012, 9(7): 107.
- [9] 贾媛, 恽菲, 常星洁, 等. 多指标优选芪葵颗粒提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(20): 28.
- [10] 刘明, 王慧生, 李更生. 正交试验优选强心胶囊制备工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(4): 47.

[责任编辑 顾雪竹]