

## HPLC-ELSD 测定芪苓益肝颗粒中黄芪甲苷

仝立国, 梁瑞敏\*, 冯玛莉, 姜楠  
(山西省中医药研究院, 太原 030012)

[摘要] 目的: 建立芪苓益肝颗粒中黄芪甲苷的含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱-蒸发光散射检测(HPLC-ELSD)法定量分析芪苓益肝颗粒中黄芪甲苷的含量, 色谱柱 Agilent Eclipse XDB C<sub>18</sub>(4.6 mm ×250 mm, 5 μm), 以乙腈-水(35:65)为流动相, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 25℃; 蒸发光散射(ELSD)检测器, 漂移管的温度 110℃, 载气流速 1.6 L·min<sup>-1</sup>。进样量 10 μL。结果: 黄芪甲苷在 0.498~9.96 μg 呈良好的线性关系,  $r=0.9998$ ; 平均回收率为 98.05%, RSD 0.89%, 在常温下 8 h 内稳定性较好。结论: HPLC-ELSD 法简便快速, 准确, 重复性好, 结果可靠, 可作为芪苓益肝颗粒的质量控制方法。

[关键词] 芪苓益肝颗粒; 黄芪甲苷; 高效液相-蒸发光散射法; 含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)13-0072-03

## Determination of Astragaloside in Qiling Yigan Granular Formulation by HPLC-ELSD

TONG Li-guo, LIANG Rui-min\*, FENG Ma-li, JIANG Nan  
(Shanxi Academy of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030012, China)

**[Abstract] Objective:** To establish a determination method of the content of astragaloside in Qiling Yigan Granular formulation by HPLC-ELSD. **Method:** The content of astragaloside in Qiling Yigan Granular formulation was determined by HPLC-ELSD and Agilent ZORBAX SB-C<sub>18</sub>(4.6 mm ×250 mm, 5 μm) column was used. The mobile phase was a mixture of acetonitrile-water (35:65), the flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, column temperature was of 25℃. The temperature of drift tube for ELSD was 110℃ and the flow rate of air was 1.6 L·min<sup>-1</sup>. **Result:** The calibration curve of astragaloside was linear over the range of 0.498-9.96 μg ( $r=0.9998$ ), the average recovery rate was 98.05%, RSD 0.89%. **Conclusion:** The method is convenient, sensitive and accurate. It can be a method for quality control in production of Qiling Yigan Granular formulation.

**[Key words]** Qiling yigan Granular formulation; astragaloside; HPLC-ELSD; Determination

芪苓益肝颗粒主要由黄芪、茯苓、泽泻、丹参等 16 味中药组成, 具有健脾益气, 活血利水之功。临床上用于肝硬化腹水属肝郁脾虚证者, 疗效确切。黄芪为方中君药, 黄芪甲苷为其有效成分。为了保证药品质量, 保证药品疗效, 本实验建立了高效液相色谱-蒸发光散射检测法(HPLC-ELSD)测定芪苓益

肝颗粒中黄芪甲苷的含量, 并作为该制剂的质量控制方法。

### 1 材料

Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司); 蒸发光散射检测器(Alltech ELSD 3300ES); HP Chemstation 色谱工作站; Sartorius 1/10 万分析天平(德国赛多利斯公司); 空气压缩机(日本日立公司)。黄芪甲苷对照品(中国药品生物制品检定所提供, 批号 0781-0908, 含量测定用); 芪苓益肝颗粒(山西省中医药研究院制剂室, 批号 091218, 091219, 091220); 不含黄芪的阴性样品也由山西省中医药研究院制剂室配制, 其他成分与芪苓益肝颗

[收稿日期] 2010-02-26

[基金项目] 山西省科技厅攻关课题(20080322034-02)

[第一作者] 仝立国, Tel: 13593187209, E-mail: dboy-007@163.com

[通讯作者] \* 梁瑞敏, Tel: 0351-4668125; E-mail: liangliang5410@yahoo.com.cn

粒相同; 甲醇(分析纯, 批号 20070230, 北京化工厂); 乙腈(色谱纯, 批号 61201 美国迪马公司); 水为双蒸水; 其他试剂为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** Aglient Eclipse XDB C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 以乙腈-水(35:65)为流动相, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 25 °C; 蒸发光散射(ELSD)检测器, 漂移管的温度 110 °C, 载气流速 1.6 L·min<sup>-1</sup>。定量方法外标法。在以上色谱条件下, 杂质对黄芪甲苷测定无干扰, 保留时间为 15.673 min。结果见图 1。

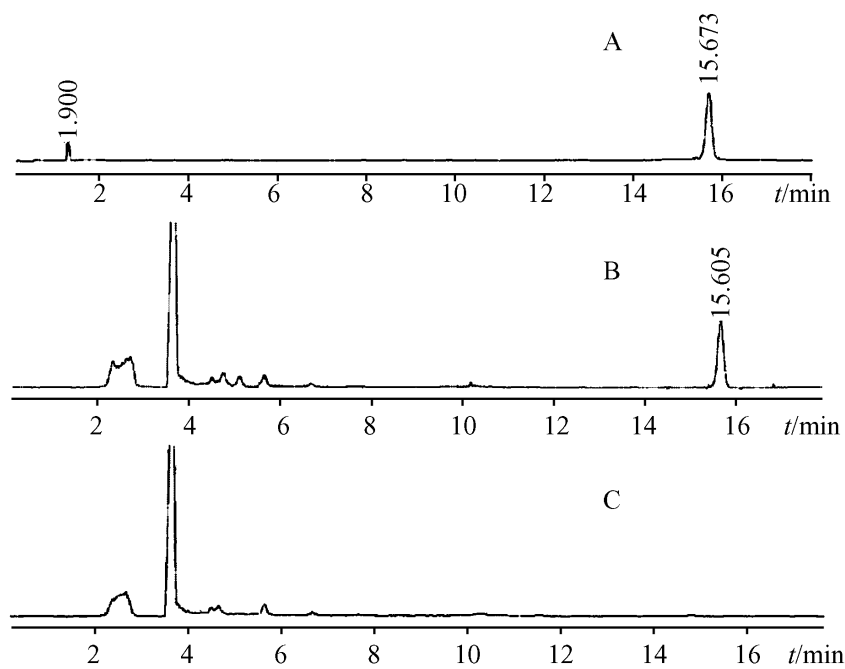


图 1 黄芪甲苷对照品(A) 供试品(B) 及阴性样品(C) 色谱

**2.2 供试品溶液的制备** 取芪苓益肝颗粒约 10 g, 精密称定, 加热水 30 mL 使溶解, 用水饱和的正丁醇振摇提取 4 次, 每次 40 mL, 合并正丁醇提取液, 用氨试液洗涤 2 次, 每次 40 mL, 再用正丁醇饱和水洗涤 2 次, 每次 40 mL, 合并正丁醇提取液浓缩至

干, 残渣用甲醇适量溶解, 转移至 5 mL 量瓶中, 甲醇定容至刻度, 摇匀, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 作为供试品溶液。

**2.3 对照溶液的制备** 精密称取干燥至恒重黄芪甲苷对照品适量, 加甲醇制成 0.5 g·L<sup>-1</sup> 的溶液, 即得。

**2.4 阴性样品溶液的制备** 取不含黄芪的阴性样品 5 g, 精密称定, 按 2.2 项中方法制成阴性样品溶液。

**2.5 标准曲线及线性范围** 精密吸取对照品溶液(0.498 g·L<sup>-1</sup>) 1, 2, 5, 10, 15, 20 μL 按 2.1 项中方法, 分别注入液相色谱仪, 以峰面积的对数为纵坐标, 以黄芪甲苷进样量的对数为横坐标, 线性回归得回归方程  $Y=0.999X+2.372$  ( $r=0.9998$ ) 黄芪甲苷在 0.498 ~9.96 μg 有良好的线性关系。

**2.6 稳定性试验** 取同一批号的样品, 精密称定, 按 2.2 项方法制备供试品溶液。分别于 0, 2, 4, 6, 8 h 进样, 峰面积 RSD 0.89%。表明样品中黄芪甲苷在 8h 内是稳定的。

**2.7 重复性试验** 取同一批号的样品 6 份, 每份约 10 g, 精密称定, 按 2.2 项方法制备供试品溶液, 进样 10 μL 测定, 结果显示, 6 次测定黄芪甲苷含量 RSD 为 1.0% ( $n=6$ ), 黄芪甲苷平均含量为 0.2363 mg·g<sup>-1</sup>, 本法的重复性较好。

**2.8 加样回收率试验** 精密称取芪苓益肝颗粒(批号 091220) 6 份, 每份约 4 g, 精密称定, 精密加入黄芪甲苷对照品溶液(0.498 mg·g<sup>-1</sup>) 2 mL, 按 2.2 项方法制备供试品溶液, 分别进样 10 μL 测定。见表 1。

表 1 芪苓益肝颗粒中黄芪甲苷的加样回收率试验

No.	取样量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	测定量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	4.09742	0.961	0.996	1.941	97.7	98.05	0.89
2	4.09226	0.967	0.996	1.942	97.9		
3	4.08379	0.965	0.996	1.950	98.9		
4	4.10072	0.969	0.996	1.941	97.6		
5	4.16843	0.985	0.996	1.947	99.3		
6	4.05417	0.958	0.996	1.923	96.9		

**2.9 样品含量测定** 取 3 批供试品(批号为 091218, 091219, 091220) 按 2.2 项和 2.1 项中样品制备方法 & 色谱条件进行测定, 进样量 10 μL, 测定峰面积, 计算黄芪甲苷的含量。结果见表 2。

表 2 芪苓益肝颗粒中黄芪甲苷含量测定 ( $n=3$ )

No.	含量 /mg·g <sup>-1</sup>	RSD /%
091218	0.2258	1.01
091219	0.2137	0.97
091220	0.2363	1.00

### 3 讨论

蒸发光散射检测器是一种通用型的检测器,可检测挥发性低于流动相的任何样品,而不需要样品含有发色基团。对温度变化不敏感,基线稳定,适合与梯度洗脱液相色谱联用<sup>[1]</sup>。

本试验采用 HPLC-ELSD 法对芪苓益肝颗粒中黄芪甲苷进行含量测定,通过试验验证是一种操作简单、快速、准确性强、灵敏度高的测定复方制剂中黄芪甲苷含量的方法。本试验比较了文献<sup>[2-3]</sup>的色谱条件及供试品制备方法,考察了蒸发光检测器漂移管的温度和雾化器气体流速对黄芪甲苷的响应值的影响,认为本试验中漂移管的温度 110℃、气体流速 1.6 L·min<sup>-1</sup>时,基线噪音小,为最优的温度和载体空气的流速。供试品溶液制备时,2 种方法检测结果无明显差异,见表 3。

故选择操作相对简单的参考文献[3]中的供试品处理方法作为本试验的供试品处理方法。HPLC-ELSD 法简便快速,准确,重复性好,结果可靠,可作为芪苓益肝颗粒的质量控制方法。

表 3 不同供试品处理方法峰面积比较

No.	方法 1 <sup>[2]</sup>	方法 2 <sup>[3]</sup>
1	350.354	359.217
	351.268	352.136
2	365.215	371.695
	359.103	368.951
3	355.581	360.321
	348.874	351.357

### [参考文献]

- [1] 陈秀琳. 蒸发光散射检测器在药物分析中的研究概况[J]. 海峡药学, 2007, 19(11): 93.
- [2] 杜凯, 吴文兵. 补中益气丸中黄芪甲苷的含量高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(9): 2335.
- [3] 吴胜君. HPLC-ELSD 测定益心健脾颗粒中黄芪甲苷的含量[J]. 中国中医药现代远程教育, 2009, 7(2): 38.

[责任编辑 顾雪竹]