

HPLC-ELSD 法测定安多霖胶囊中黄芪甲苷

钱丽萍¹, 林 绥^{1*}, 阙慧卿¹, 谢艺艺², 刘 韧²

1. 福建省医学科学研究院, 福建 福州 350001

2. 福州阿多拉制药有限公司, 福建 福州 350003

摘要: **目的** 建立高效液相色谱-蒸发光散射检测器(HPLC-ELSD)法测定安多霖胶囊中黄芪甲苷的方法。**方法** 采用Ultimate色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-超纯水(32:68), 体积流量为1 mL/min, 漂移管温度40 ℃, 蒸发光散射检测器雾化气体为氮气, 体积流量为2.7 L/min, 载气压力350 kPa, 进样量20 μL。**结果** 黄芪甲苷在1.59~10.60 μg呈良好的线性关系, $r=0.999\ 5$, 平均回收率为99.11%, RSD为2.58% ($n=6$)。**结论** 本方法简便准确, 重现性好, 可用于安多霖胶囊的质量控制。

关键词: 安多霖胶囊; 黄芪甲苷; 高效液相色谱-蒸发光散射检测器(HPLC-ELSD)法

中图分类号: R286.02 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2012)04-0383-03

Determination of astragaloside in Anduolin Capsule by HPLC-ELSD

QIAN Li-ping¹, LIN Sui¹, QUE Hui-qing¹, XIE Yi-yi², LIU Ren²

1. Fujian Academy of Medical Sciences, Fuzhou 350001, China

2. Fuzhou Aduola Pharmaceutical Co., Ltd., Fuzhou 350003, China

Abstract: Objective To develop a method for the determination of astragaloside in Anduolin Capsule by HPLC-ELSD. **Methods** The samples were separated on Ultimate column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) with acetonitrile-water (32:68) as mobile phase at a flow rate of 1 mL/min. The temperature of drift tube for measurement was 40 ℃, and the flow pressure of N₂ was 350 kPa with injection volume of 20 μL at a flow rate of 2.7 L/min. **Results** The linear range of astragaloside was 1.59—10.60 μg ($r=0.999\ 5$). The average recovery rate was 99.11% with RSD at 2.58% ($n=6$). **Conclusion** This method is simple, accurate and repeatable for the quality control for Anduolin Capsule.

Key words: Anduolin Capsule; astragaloside; HPLC-ELSD method

安多霖胶囊是由黄芪、鸡血藤、绿萍等组成的中药口服制剂, 具有益气补血、扶正解毒的功效, 主治气血两虚, 适用于放化疗引起的白细胞下降、免疫功能低下、食欲不振、神疲乏力、头晕气短等症, 对肿瘤放射治疗中因辐射损伤造成的淋巴细胞微核率增高具有改善作用, 可用于辐射损伤的改善。黄芪系处方中的主要药味之一, 黄芪甲苷为黄芪的特征成分。文献报道采用薄层色谱扫描法测定安多霖胶囊中黄芪甲苷^[1-2], 但方法的重现性和精密度较差, 需要改进。为了更好地控制安多霖胶囊的质量, 本实验建立了高效液相色谱-蒸发光散射检测器(HPLC-ELSD)法对安多霖胶囊中的黄芪甲苷进行了测定。

1 仪器与试剂

LC—20AT 高效液相色谱仪、ELSD—LT II 蒸发光散射检测器(日本岛津公司), AL—204 电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司), KQ2200E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

黄芪甲苷对照品(中国药品生物制品检定所提供, 批号 110781-200613); 安多霖胶囊(福州阿多拉制药有限公司提供, 0.32 g/粒, 批号 100601、100701、100901、100902); 乙腈为色谱级, 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Ultimate 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),

收稿日期: 2012-05-07

*通讯作者 林 绥(1961—), 女, 研究员, 主要从事中药与天然药物的研究。Tel: (0591)87544545 E-mail: linsui_syy@sina.com.cn

流动相为乙腈-超纯水 (32:68), 体积流量为 1 mL/min, 漂移管温度 40 °C, 蒸发光散射检测器雾化气体为氮气, 体积流量为 2.7 L/min, 载气压力 350 kPa, 进样量 20 μ L。在此色谱条件下色谱图基线平稳, 黄芪甲苷峰与其他峰分离度良好, 杂质对测定无干扰, 且柱效高, 峰形理想。对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液的色谱图见图 1。

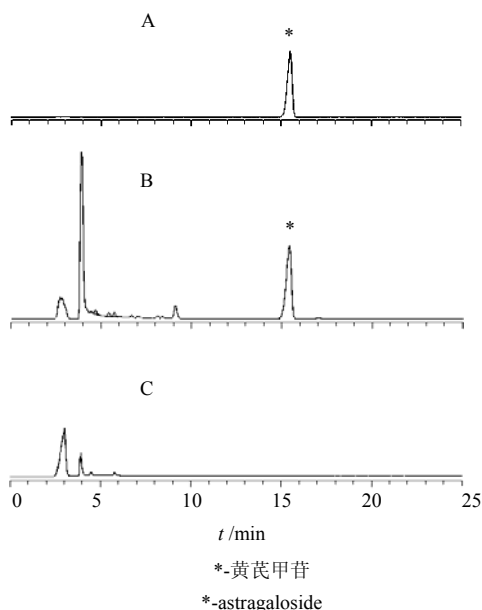


图 1 对照品 (A)、安多霖胶囊 (B)、阴性样品 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substance (A), Anduolin Capsule (B) and negative sample (C)

2.2 对照品溶液的制备

精密称取黄芪甲苷对照品 26.5 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得 (含黄芪甲苷 0.53 mg/mL)。

2.3 供试品溶液的制备^[3]

精密称定安多霖胶囊药粉 10 g, 加入 100 mL 甲醇, 称定质量, 回流提取 4 h, 取出, 放冷, 称定质量, 补足减少的质量, 滤过, 精密吸取 50 mL 续滤液蒸干。加入 20 mL 蒸馏水微热, 转移至 125 mL 分液漏斗, 再用 20 mL 蒸馏水分 3 次洗涤, 洗涤液完全转入分液漏斗, 用水饱和的正丁醇提取 3 次, 每次 40 mL, 合并正丁醇液, 用氨试液 40 mL 洗涤, 弃去氨液, 继用正丁醇饱和的水 40 mL 洗涤, 弃去水液, 正丁醇液蒸干, 用色谱纯甲醇溶解, 并转移至 25 mL 量瓶中, 加色谱纯甲醇稀释至刻度, 摇匀, 用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 阴性对照溶液的制备

按处方量称取处方中除黄芪以外的中药饮片, 按供试品溶液的制备方法操作, 即得。

2.5 线性关系考察

分别精密吸取 0.53 mg/mL 黄芪甲苷对照品溶液 3、6、9、12、15、18 μ L, 注入液相色谱仪, 测定。以黄芪甲苷峰面积的自然对数值为纵坐标, 进样质量的自然对数值为横坐标, 绘制标准曲线, 拟合回归方程, 得回归方程 $\ln A = 1.5815 \ln C + 9.8775$, $r = 0.9995$, 表明黄芪甲苷在 1.59~10.60 μ g 的线性关系良好。

2.6 精密度试验

取 0.53 mg/mL 黄芪甲苷对照品溶液, 在上述色谱条件下重复进样 6 次, 测定黄芪甲苷峰面积, 结果 RSD 为 1.09%。

2.7 稳定性试验

取批号 100601 安多霖胶囊样品, 制备供试品溶液, 分别在 0、2、4、6、8、10 h 进样 20 μ L, 测定黄芪甲苷峰面积, 计算得 RSD 为 2.50%。结果表明, 供试品溶液在 10 h 内测定无明显变化, 稳定性良好, 可以满足测定的要求。

2.8 重现性试验

取批号 100601 安多霖胶囊样品 6 份, 制备供试品溶液, 进样, 测定黄芪甲苷峰面积, 计算得黄芪甲苷的平均质量分数为 0.92 mg/g, RSD 为 1.66%。

2.9 回收率试验

取批号 100601 安多霖胶囊样品内容物适量, 精密称取 5 g, 共 6 份, 分别精密加入 0.53 mg/mL 黄芪甲苷对照品溶液 9 mL, 制备供试品溶液, 进样, 测定黄芪甲苷的质量, 计算回收率, 结果平均回收率为 99.11%, RSD 为 2.58%。

2.10 样品测定

分别取 4 批安多霖胶囊样品 (批号 100601、100701、100901、100902), 每批各 3 份, 制备供试品溶液, 进样测定, 以外标两点对数法计算样品中黄芪甲苷的质量分数, 结果见表 1。

3 讨论

对于方中的黄芪甲苷的测定方法参考《中国药典》2010 年版一部中“黄芪”项下的测定方法^[3], 并作适当调整。原方法采用索氏提取的方法, 操作较繁琐, 本实验采用甲醇回流提取 4 h; 比较原方法, 把用大孔吸附树脂分离纯化这一步改为用正丁醇饱和的水萃取洗涤, 分离了杂质, 在不影响测定结果

表 1 安多霖胶囊中黄芪甲苷的测定结果 ($n=3$)Table 1 Determination of astragaloside in Anduolin Capsule ($n=3$)

批 号	黄芪甲苷/(mg·g ⁻¹)	RSD/%
100601	0.916 2	1.68
100701	0.923 6	1.72
100901	0.920 4	1.74
100902	0.920 4	1.62

的前提下,简化操作,省时省力。因此确定黄芪甲苷的处理方法为用甲醇回流提取和不上大孔树脂柱分离纯化。

黄芪甲苷仅有较弱的紫外末端吸收,采用紫外检测器检测的灵敏度较低,且与杂质较难分离,而

蒸发光散射检测器可以检测没有紫外吸收的有机物质,其响应不依赖于样品的光学特性,流动相在检测器中全部蒸发,任何挥发性低于流动相的样品均能被检测,不受其官能团的影响,灵敏度高,稳定性及重现性均能符合测定的要求。因此为了提高安多霖胶囊质量标准,可以采用 HPLC-ELSD 法测定其中的黄芪甲苷。

参考文献

- [1] 林 绥,邓思珊,刘 韧.安多霖质量标准的研究(I)[J].中草药,2001,32(6):506-507.
- [2] 国家食品药品监督管理局国家药品标准[S].WS3-011(Z-005)-2009Z.2009.
- [3] 中国药典[S].一部.2010:284.

中草药杂志社售过刊信息

天津中草药杂志社是经国家新闻出版总署批准于2009年8月在天津滨海新区注册成立。编辑出版《中草药》、*Chinese Herbal Medicines*、《现代药物与临床》(2009年由《国外医药·植物药分册》改刊)、《药物评价研究》(2009年由《中文科技资料目录·中草药》改刊)。欢迎投稿,欢迎订阅。

《中草药》杂志合订本:1974—1975年、1976年、1979年、1988—1993年(80元/年),1996、1997年(110元/年),1998年(120元/年),1999年(135元/年),2000年(180元/年),2001—2003年(200元/年),2004年(220元/年),2005年(260元/年),2006—2008年(280元/年),2009年(400元/年),2010年(400元/年),2011年(550元/年)。

《中草药》增刊:1996年(50元),1997年(45元),1998年(55元),1999年(70元),2000、2001年(70元),2002—2007年(65元/年),2008、2009年(55元/年)。凡订阅《中草药》杂志且提供订阅凭证者,购买增刊7折优惠,款到寄刊。

Chinese Herbal Medicines 合订本:2010年(150元/年),2011年(150元/年)。

《现代药物与临床》合订本:2009年(120元/年),2010年(120元/年),2011年(120元/年)。

《国外医药·植物药分册》合订本:1996—2008年(80元/年),2006—2008年(90元/年)。

《药物评价研究》2009年单行本每册15元,2010年合订本(120元/年),2011年(120元/年)。

《中文科技资料目录·中草药》:1993—2006年合订本(全套2040元),2007—2008年单行本,每册定价30元,全年订价210元(6期+十年索引)。

天津中草药杂志社

地 址:天津市南开区鞍山西道308号

邮 编:300193

电 话:022-27474913 23006823

传 真:022-23006821

网 址:www.tiprpress.com

开户银行:兴业银行天津南开支行

帐 号:441140100100081504

户 名:天津中草药杂志社