

HPLC-ELSD 法测定芪葛口服液黄芪甲苷

吴青业¹, 周恩丽², 付小环², 徐连明², 尚强², 赵祎武², 王伟², 杨立国², 徐海娟², 肖伟^{2*}

(1 广州中医药大学科技产业园, 广东 广州 510445; 2 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001)

摘要:目的 测定芪葛口服液中主要成分黄芪甲苷。方法 采用 HPLC-ELSD 法。色谱柱为 Agilent Zorbax-C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水(33:67), 柱温 30℃, 体积流量 1 mL/min, 蒸发光散射检测漂移管温度 43℃, 雾化器温度 35℃, 氮气压力 172 kPa; 进样量 5 μL。结果 黄芪甲苷在 1.012~10.120 μg 具有良好的线性关系, 平均加样回收率为 96.89%, RSD 为 1.58%。结论 本方法简便、快捷、重现性好, 适用于芪葛口服液的质量控制。

关键词: 芪葛口服液; 黄芪甲苷; HPLC-ELSD

中图分类号: R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2010)08-1305-03

芪葛口服液是自主研发的口服液制剂新药, 其处方由黄芪、葛根、桂枝、威灵仙、白芍、姜黄、川芎和菊花 8 味中药组成, 具有益气活血, 宣痹通络之功效, 用于颈椎病引起的眩晕、头痛、项强、手臂麻木等症, 临床疗效显著。本研究采用 HPLC-ELSD 法测定方中君药黄芪中有效成分黄芪甲苷^[1], 该方法简便、准确、重现性好, 可以较好的控制药品质量。

1 仪器和材料

Waters 2695-2420 高效液相色谱仪, AE240 型电子分析天平; 黄芪甲苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110781-200613), 芪葛口服液(江苏康缘药业股份有限公司, 规格为 10 mL/支), 乙腈为色谱纯, 水为中性水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱柱: Agilent Zorbax-C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水(33:67), 柱温 30℃, 体积流量 1 mL/min, 蒸发光散射检测: 漂移管温度 43℃, 雾化器温度 35℃, 氮气压力 172 kPa; 进样量 5 μL。

2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品溶液的制备: 取黄芪甲苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成 1 mg/mL 溶液, 作为对照品溶液。

2.2.2 阴性对照溶液的制备: 按处方组成, 取除黄芪外的其余药材和辅料按工艺要求制成缺黄芪的阴性样品, 同供试品溶液制备方法制备阴性对照溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备^[2] 精密量取装量差异项下的本品 10 mL, 置分液漏斗中, 用水饱和正丁醇振

摇提取 4 次(60、40、40、40 mL), 合并正丁醇液, 用氨试液洗涤 3 次, 每次 40 mL, 弃去氨液, 回收正丁醇至干, 残渣加水 10 mL 使溶解, 放冷, 通过 D₁₀₁ 大孔吸附树脂柱(内径 1.5 cm, 长 12 cm), 用 50 mL 水洗脱, 弃去水液, 再用 40%乙醇 50 mL 洗脱, 弃去 40%乙醇洗脱液, 继用 70%乙醇 150 mL 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 用甲醇溶解并移置 2 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。

2.3 空白试验: 精密吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性供试品溶液各 5 μL, 注入高效液相色谱仪, 测定, 见图 1。结果表明, 阴性对照对黄芪甲苷峰无干扰。

2.4 标准曲线的制备: 分别精密吸取 1.012 mg/mL 黄芪甲苷对照品溶液 1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 μL 注入高效液相色谱仪, 以进样量的对数为横坐标, 峰面积的对数为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程为 $Y = 1.6904X + 5.7801$, $r = 0.9999$, 结果表明黄芪甲苷在 1.012~10.12 μg 线性关系良好。

2.5 精密度试验: 精密吸取 1.012 mg/mL 黄芪甲苷对照品溶液 4 μL, 连续进样 6 次, 记录峰面积, 结果其 RSD 为 2.10%。

2.6 稳定性试验: 取批号 090601 样品, 制备供试品溶液, 精密吸取供试品溶液 5 μL, 注入液相色谱仪, 分别在 0.1、2、4、8、12 h 进样测定, 记录黄芪甲苷峰面积, 结果供试品溶液在 12 h 内基本稳定, RSD 为 2.04%。

2.7 重现性试验: 取批号 090601 样品 5 份, 制备供试品溶液, 精密吸取供试品溶液 5 μL, 注入液相色谱仪, 记录峰面积, 计算黄芪甲苷的质量浓度, 结果其 RSD 为 2.20%。

* 收稿日期: 2010-02-29

基金项目: 国家科技部重大新药创制项目(2009ZX09313-032)

作者简介: 吴青业(1968—), 男, 江苏连云港人, 博士, 副主任药师, 研究方向为中药工艺与质量标准研究。Tel: (020) 87476679

* 通讯作者: 肖伟 Tel: (0518) 85521956

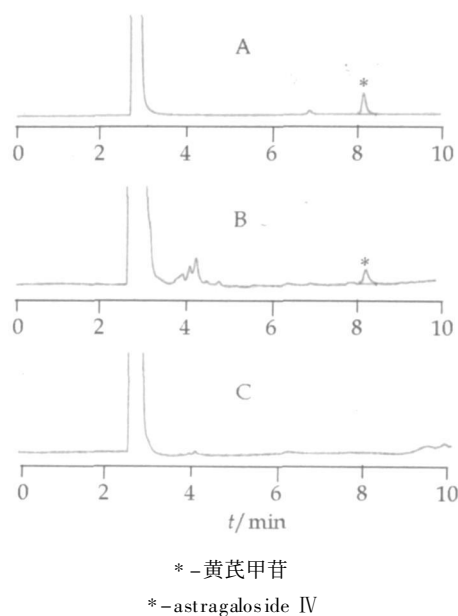


图1 黄芪甲苷对照品(A)、阴性对照(B)和芪葛口服液(C) HPLC 色谱图

Fig 1 HPLC Chromatograms of astragaloside IV (A), negative sample (B), and Qige Oral Solution (C)

份约 5 mL, 精密称定, 分别精密加入 1.36 mg/mL 黄芪甲苷对照品溶液 1 mL, 制备供试品溶液, 精密吸取供试品溶液 5 μ L, 注入液相色谱仪, 记录峰面积, 计算得平均回收率为 96.89%, RSD 为 1.58%。

2.9 样品测定: 取 8 批芪葛口服液, 制备供试品溶液, 每批均平行制备两份, 进样测定, 外标法计算, 结果见表 1。

表1 芪葛口服液中黄芪甲苷的测定结果

Table 1 Determination of astragaloside IV in Qige Solution

批号	黄芪甲苷/(mg·支 ⁻¹)	批号	黄芪甲苷/(mg·支 ⁻¹)
090601	1.83	090702	1.83
090602	1.24	090703	1.28
090603	1.16	090801	1.34
090701	1.84	090803	1.28

3 讨论

考察了黄芪甲苷供试品溶液的制备方法中水饱和正丁醇萃取次数对黄芪甲苷转移率的影响, 结果显示萃取 4 次时, 黄芪甲苷已提取完全。

参考文献:

- [1] 朱虹云, 徐文峰, 刘帅英. HPLC-ELSD 法测定补血颗粒中黄芪甲苷[J]. 中草药, 2009, 40(8): 1247-1249
- [2] 中国药典[S]. 一部. 2005

2.8 加样回收率试验: 取批号 090601 样品 5 份, 每

天津中草药杂志社开通网上在线投稿系统

天津中草药杂志社编辑出版的 4 种期刊《中草药》、Chinese Herbal Medicines、《现代药物与临床》(原刊名《国外医药·植物药分册》)、《药物评价研究》(原刊名《中文科技资料目录·中草药》) 为提高稿件处理效率, 更好地为广大读者和作者服务, 从 2010 年 1 月开始, 中草药杂志社开通网上在线投稿系统。

1. 在线投稿请登陆天津中草药杂志社网站: [http// www. 中草药杂志社. 中国](http://www.中草药杂志社.中国) 或 [www. tiprpress. com](http://www.tiprpress.com) 点击进入 4 刊网页, 在页面左侧有“作者登录”链接, 第一次登陆按操作说明注册后进行在线投稿; 作者可通过点击“作者登录”进行稿件查询。

2. 原则上不再采用电子邮件、纸质投稿。

在此, 对广大作者、读者和编委对本刊长期以来的支持表示深深的感谢!