

HPLC 测定黄芪建中丸中黄芪甲苷的含量

★ 郭小春 陈金霞 (江西南昌济生制药厂 南昌 330115)

摘要:目的:建立黄芪建中丸中有效成分含量的 HPLC 测定方法。方法:采用 AlltechC₁₈ 柱,流动相为乙腈-水(35:65),蒸发光散射检测器。结果:黄芪甲苷在 0.1972~2.465 μg(R=0.999 1) 范围内进样量对数与峰面积对数成线性关系。平均回收率(n=6)为 98.70%,RSD 为 0.4%。结论:本法测定操作简便,结果可靠、准确,可用于该产品的质量控制在。

关键词:黄芪建中丸;黄芪甲苷;HPLC

中图分类号:R 927.2 **文献标识码:**A

黄芪建中丸由黄芪、桂枝、白芍、炙甘草、生姜、大枣、饴糖等药材制成,具有补气散寒,健胃和中的功效。用于中气不足,心悸气短,恶寒腹痛^[1]。该制剂标准目前含量测定采用高效液相法测定芍药苷,而没有测定黄芪中黄芪甲苷的含量,故尝试测定方中重要成分黄芪甲苷的含量,以便提高其质量控制标准。本文采用高效液相色谱法,对制剂中黄芪甲苷进行含量测定,结果满意。

1 仪器与试剂

精密称定,置已经加了绿原酸对照品的三角锥形瓶中,照样品制备方法制备,并测定绿原酸总量,计算加样回收率及平均回收率。结果平均回收率为 98.52%,RSD% 为 0.53%,说明本方法准确、可靠。结果见表 1。

表 1 加样回收试验结果

编号	称样量 /g	含绿原酸量 /mg	加入绿原酸 /mg	测出量 /mg	回收率 %	平均回收率 %	RSD %
1	0.151 2	0.459 6	0.458	0.915 2	99.47		
2	0.151 5	0.460 6	0.458	0.910 3	98.20		
3	0.157 4	0.478 5	0.366 4	0.840 1	98.69	98.52%	0.53%
4	0.155 6	0.473 0	0.366 4	0.833 5	98.38		
5	0.157 7	0.4794	0.549 6	1.020 3	98.42		
6	0.155 6	0.473 0	0.549 6	1.011 5	97.98		

2.11 样品测定 取三批不同批号的样品 0.3 g,精密称定,各两份,依法测定各批号样品的绿原酸含量。结果三批样品绿原酸含量均高于 15 mg/袋。因此规定样品含金银花量以绿原酸计不得小于 12 mg/袋。结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果

批号	称样量 /g	含量 /mg·g ⁻¹	平均 /mg·g ⁻¹	RSD %	样品含量 /mg·袋 ⁻¹
060416	0.3039	3.047	3.044	0.16	15.37
	0.3035	3.040			
060417	0.3078	3.628	3.64	0.69	18.48
	0.3056	3.650			
060418	0.3001	3.586	3.14	0.83	18.44
	0.3022	3.641			

Waters 高效液相色谱仪:配有 Waters717 全自动进样器、Waters600 泵、Waters2420 蒸发光散射检测器和 Empower 色谱数据工作站。试剂:黄芪甲苷对照品(中国药品生物制品检定所);黄芪建中丸(赤峰天奇制药有限公司,批号 20080705、20080810、20080811);甲醇为色谱纯,水为双重蒸馏水。

2 色谱条件

色谱柱:AlltechC₁₈ 柱(5 μm,250 mm×4.6

3 讨论

3.1 样品制备方法选择 牛玄石颗粒的制备工艺是采用水煎煮后,经过两次乙醇纯化,样品颜色比较浅,参考中国药典 2005 年版一部金银花含量测定方法,选用 50% 甲醇 50 ml 为本样品的提取溶剂,样品在此溶剂中经过短时超声就能够完全溶解,因此我们考虑不同超声时间 5、10、15 分钟对绿原酸提取率的影响。结果样品经超声 10 分钟以后,样品绿原酸含量几乎保持不变,因此超声时间选用 10 分钟。

3.2 流动相的选择 本实验比较了乙腈-0.4% 磷酸溶液(15:85)、甲醇-水-甲酸、甲醇-水-冰醋酸等流动相的分离效果,最后选用乙腈-0.4% 磷酸溶液(15:85)为流动相,绿原酸能获得较好的峰形,数据重现性较好。

总的来说,方中主药金银花主含绿原酸,以此定量监控指标,结果准确可靠,且重现性好,可有效地控制本制剂质量。

参考文献

- [1]郑占虎,董泽宏,余靖.中药现代化研究与应用(第二卷)[M].北京:学苑出版社,1997:1 377.
- [2]国家药典委员会编.中华人民共和国药典 2005 版一部[S].北京:化学工业出版社,2005:153-154.

(收稿日期:2009-04-29 责任编辑:查青林)

mm);流动相:乙腈-水(35:65);流速:1 ml·min⁻¹;检测器:蒸发光散射检测器;柱温35℃。

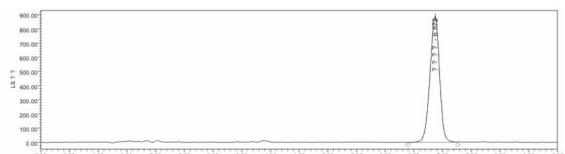
3 方法与结果

3.1 对照品溶液的制备 精密称取黄芪甲苷对照品适量,加甲醇制成每1 ml含98.6 μg的溶液,备用。

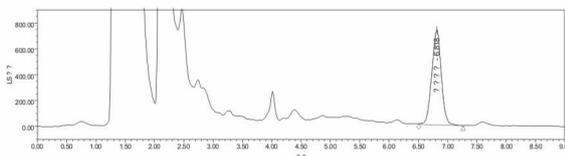
3.2 供试品溶液的制备 取重量差异项下的本品,切碎,混匀,取18 g,精密称定,加硅藻土12 g,研匀,加甲醇50 ml,加热回流1小时,滤过,滤液蒸干,残渣加水20 ml使溶解,置D101大孔吸附树脂柱(内径1.5 cm,长10 cm,用水100 ml预洗)上,用水100 ml洗脱,弃去水液,再用40%乙醇40 ml,洗脱,弃40%乙醇液,继用70%乙醇50 ml洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加水15 ml使溶解,用水饱和的正丁醇振荡提取3次,每次20 ml。合并正丁醇提取液,用氨试液20 ml洗涤,弃去氨液,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇溶解转移至10 ml容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得。

3.3 阴性对照溶液的制备 按处方比例和工艺制备不含黄芪的阴性样品,照供试品制备方法制备阴性样品溶液,备用。

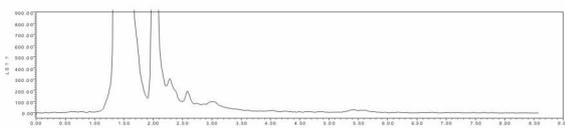
3.4 系统适应性试验 在上述色谱条件下测定,结果表明,理论塔板数以黄芪甲苷峰计算为4 000,阴性样品对测定无干扰。(见图1)



A: 对照品色谱图



B: 样品色谱图



C: 阴性样品色谱图

图1 HPLC图谱

3.5 线性关系考察 精密称取黄芪甲苷对照品适量,加甲醇制成每1 ml含98.6 μg的溶液。分别精密吸取2.0,5.0,10.0,15.0,20.0,25.0 μl注入液相色谱仪,测定峰面积,以对照品的进样量(μg)的

对数值(X)为横坐标,峰面积的对数值(Y)为纵坐标,得黄芪甲苷的对数回归方程为: $Y = 0.910462X - 6.12075$, $R = 0.9991$,线性范围为0.1972 ~ 2.465 μg。

3.6 精密度试验 精密吸取上述对照品溶液20 μl,连续进样5次,测定其峰面积,RSD为0.8%。

3.7 重复性试验 取同一样品,按供试品制备方法制备5份供试品,依法测定,计算得黄芪甲苷平均含量为0.38 mg/丸(RSD=1.2%)。

3.8 稳定性试验 取同一份供试品溶液,在0、2、4、6、8、10、12小时,分别进样测定,峰面积RSD为0.6%,表明供试品溶液在12小时内稳定。

3.9 样品的测定 取3批黄芪建中丸样品,按3.2项下方法制备供试品溶液各3份,按上述色谱条件测定含量,结果分别为:批号20080705中黄芪甲苷含量为0.38 mg/丸(RSD=1.0%);批号20080810中黄芪甲苷含量为0.35 mg/丸(RSD=1.1%);批号20080811中黄芪甲苷含量为0.34 mg/丸(RSD=1.3%)。

3.10 加样回收试验 取已测定含量的样品6份,分别精密加黄芪甲苷对照品溶液,按3.2项下方法操作,测定,计算加样回收率,结果见表1。

表1 黄芪甲苷回收率试验结果(n=6)

样品量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD
0.761	0.197	0.949	99.06	98.70	0.4
0.761	0.197	0.945	98.64		
0.761	0.493	1.241	98.96		
0.761	0.493	1.240	98.89		
0.761	0.986	1.711	97.94		
0.761	0.986	1.724	98.68		

4 讨论

(1)本文参考了《中国药典》2005版一部中黄芪的含量测定^[2],采用蒸发光散射检测器,并采用乙腈-水(35:65)为流动相,分离度达到要求,且保留时间比较短。

(2)供试品的制备方法,参考了黄芪建中丸原标准中鉴别(1)项下的制备方法。

(3)本法测定操作简便,结果准确可信,可用于该品种制剂的质量控制。

参考文献

- [1]中成地方标准上升国家药品标准部分(内科脾胃分册)[S].标准编号:WS-10341(ZD-0341)-2002.
- [2]国家药典委员会.《中国药典》2005版一部[S].北京:化学工业出版社,2005:212.

(收稿日期:2009-06-02 责任编辑:查青林)