

溶性成分的干扰,鉴别及含量测定方法均简便,重复性好,专属性强。

#### 参考文献:

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2005:65,78,附录 31.  
 [2] 吴雄壮,王美芳,杨思远,等. 不同部位和不同生长年限白芍中的芍药苷含量测定[J]. 中国现代应用药学杂志,2006,23(4):292.  
 [3] 李锦绣,时宵宵,王丰云. 高效液相色谱法测定胃乐胶囊中芍药

- 苷的含量[J]. 中国药房,2004,15(10):626.  
 [4] 吴艳丽,孙海涛,史学惠,等. HPLC 测定荡涤灵颗粒中芍药苷的含量[J]. 中国现代中药,2006,8(10):16-18.  
 [5] 刘永刚,戴敬,李冬梅,等. 对 2000 年版《中国药典》白芍药材含量测定方法的改进[J]. 中国药品标准,2005,6(2):46-49.  
 [6] 莫可丰. 白芍芍药苷含量测定方法的研究[J]. 广西中医药,2003,26(2):6-7.

[收稿日期]2007-05-18

## 高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定那保胶囊中黄芪甲苷含量

马明英<sup>1,3</sup>,张晓峰<sup>1</sup>,付超美<sup>2</sup>,贾东艳<sup>2</sup> (1. 中国科学院西北高原生物所,青海 西宁 810008;2. 成都中医药大学药学院,四川 成都 610075;3. 中国科学院研究生院,北京 100049)

[摘要] 目的:采用高效液相-蒸发光散射检测器(HPLC-ELSD)法测定藏药那保胶囊中黄芪甲苷的含量。方法:色谱柱为 Kromasil C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm);流动相为乙腈-水(36:64);ELSD(蒸发光散射检测器)检测。结果:黄芪甲苷在 1~10 μg 范围内具有良好的线性关系( $r=0.999$ ),平均回收率为 99.05%,RSD 为 2.48%。结论:该法简便可行,重复性好,适用于那保胶囊的质量控制。

[关键词] 那保胶囊;黄芪甲苷;高效液相色谱;蒸发光散射检测器

[中图分类号] R927.2 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5213(2007)11-1530-02

### Determination of stragaloside in Nabao capsules by HPLC-ELSD

MA Ming-ying<sup>1,3</sup>,ZHANG Xiao-feng<sup>1</sup>,FU Chao-mei<sup>2</sup>,JIA Dong-yan<sup>2</sup> (1. Northwest Plateau Institute of Biology, the Chinese Academy of Sciences, Qinghai Xining 80001, China; 2. Chengdu University of TCM, Sichuan Chengdu 610075, China; 3. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**ABSTRACT:OBJECTIVE** To establish an HPLC-ELSD method for determination of Astragaloside in Nabao capsules. **METHODS** chromatography was performed on a ODS column. the mobile phase composition was acetonitrile-water (36:64). An evaporation light scattering detector (ELSD) was used as detector with gas pressure of 46.3 psi. **RESULTS** The linear range was 1-10 μg and the correlation coefficient was 0.999. The average recovery was 99.05% with RSD of 2.48%. **CONCLUSION** the method is simple, feasible and reproducible. It can be used for the quality control of Nabao capsules.

**KEY WORDS:** Nabao capsules; astragaloside; HPLC; ELSD

藏药那保胶囊是新研制的中药复方 6 类新药,由黄芪、当归、延胡索、白花蛇舌草、铁棒锤等药组成。具有清热解毒、镇惊、解痉止痛的作用,用于外伤疼痛、术后疼痛、各种内脏痉挛性疼痛以及中晚期癌痛。黄芪甲苷为方中君药黄芪的主要有效成分之一,其测定方法目前有薄层扫描法<sup>[1]</sup>、液相色谱法<sup>[2]</sup>等,本试验采用 HPLC-ELSD 法<sup>[3]</sup>测定那保胶囊中黄芪甲苷的含量,为控制本品质量提供了依据。

#### 1 材料

Series 1500 型高效液相色谱仪,MODEL200 型蒸发光散射检测器(美国 Softa corporation),N2000 色谱工作站;黄芪甲苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110781-200512);那保胶囊(成都中医药

大学炮制制剂教研室,批号 060501,060502,060503);乙腈为色谱纯;水为注射用水;其他试剂均为分析纯。

#### 2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱:Kromasil C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm,5 μm);流动相:乙腈-水(36:64);流速:1.0 mL·min<sup>-1</sup>;柱温:35;检测器参数:气化室温度:70,蒸发室温度:40,氮气压力:46.3 psi。

#### 2.2 溶液的制备

2.2.1 供试品溶液的制备 取本品内容物约 7.5 g,研细,精密称定,置索氏提取器中,加甲醇 40 mL,冷浸过夜,再加甲醇 100 mL,加热回流 4 h,提取液回收溶剂并浓缩至干,残渣加水 10 mL,微热使

[作者简介] 马明英,女,硕士研究生,电话:13997296463, E-mail:mingyingma@126.com [通讯作者] 张晓峰,男,研究员,电话:13327692552

溶解,用水饱和的正丁醇振摇提取 4 次,每次 40 mL,合并正丁醇液,用氨试液充分洗涤 2 次,每次 40 mL,弃去氨液,正丁醇液蒸干,残渣加水 5 mL 使溶解,放冷,通过 D101 型大孔吸附树脂柱(内径 1.5 cm,长 12 cm),以水 50 mL 洗脱,弃去水液,再用 40%乙醇 30 mL 洗脱,弃去洗脱液,再用 70%乙醇 80 mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,用甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,即得。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取黄芪甲苷对照品 10 mg,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,作为贮备液。

2.2.3 阴性对照样品溶液的制备 按处方比例及工艺制备不含黄芪药材的阴性样品,样品处理方法同“2.2.1”。

2.3 阴性对照试验 按上述色谱条件,精密吸取“2.2”项下 3 种溶液各 10 μL 分别注入液相色谱仪进行测定。结果供试品色谱图中有与对照品相同的保留时间,分离度良好,而阴性对照样品溶液对测定没有干扰。对照品、样品及阴性样品色谱图见图 1。

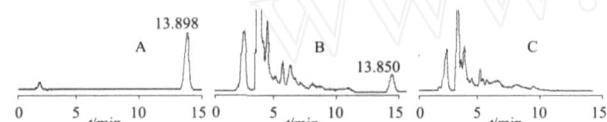


图 1 那保胶囊中黄芪甲苷含量测定的色谱图

A. 对照品; B. 样品; C. 阴性样品

Fig 1 HPLC chromatograms of Astragaloside

A. reference substance; B. sample; C. negative control

2.4 线性关系考察 精密吸取上述对照品贮备液 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 1 mL 置 1 mL 量瓶,用甲醇稀释至刻度。各进样 10 μL,测定峰面积积分值。以峰面积的对数值(Y)为纵坐标,进样量的对数值(X)为横坐标,经线性回归,得回归方程:  $Y = 1.3526X + 13.544$ ,  $r = 0.9990$ 。黄芪甲苷在 1 ~ 10 μg 范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验 精密吸取黄芪甲苷对照品溶液(0.50 g L<sup>-1</sup>) 10 μL,连续进样 6 次,按上述色谱条件测定峰面积,RSD 为 1.82% (n = 6)。结果表明,仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于 0, 6, 12, 24, 48 h 进样 10 μL,按上述色谱条件测定峰面积,RSD 为 1.89% (n = 5)。结果表明,供试品溶液在 48 h 内稳定。

2.7 重复性试验 取样品(批号 060501)内容物 6 份,分别照“2.2.1”项下方法制备供试品溶液,并按上述色谱条件进行测定,RSD 为 1.48% (n = 6)。结

果表明,该方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验 取已知含量(0.1878 mg · g<sup>-1</sup>)的样品(批号 060501)内容物 6 份,各约 3.75 g,精密称定,分别精密加入质量浓度为 0.1409 g L<sup>-1</sup> 的黄芪甲苷对照品溶液 5 mL,按上述供试品溶液的制备方法 & 色谱条件测定,计算回收率,结果见表 1。

表 1 回收率试验结果(n = 6)

Tab 1 Results of recovery rate (n = 6)

取样量 / g	样品中含 有量 / mg	加入对照 品量 / mg	测得 总量 / mg	回收率 / %	平均 回收率 / %	RSD / %
3.7505	0.7043		1.3843	96.52	99.05	2.48
3.7498	0.7042		1.4039	99.32		
3.7517	0.7046	0.7045	1.3806	95.95		
3.7513	0.7045		1.4243	102.17		
3.7350	0.7033		1.4158	101.14		
3.7509	0.7044		1.4032	99.19		

2.9 样品测定 取那保胶囊样品 3 批,按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液,并按上述色谱条件,以外标两点法测定样品中黄芪甲苷峰面积,计算黄芪甲苷含量,结果见表 2。

表 2 样品中黄芪甲苷的含量测定结果(n = 3)

Tab 2 Determination results of Astragaloside A (n = 3)

批号	黄芪甲苷含量 / mg · 粒 <sup>-1</sup>	RSD / %
060501	0.0677	1.83
060502	0.0633	1.87
060503	0.0689	1.33

### 3 讨论

黄芪甲苷属四环三萜类皂苷,在 201 nm 波长处有弱的末端吸收,选择 UV 检测器测定其含量时,相应的流动相在此波长下应无 UV 吸收,因此制约着流动相的选择范围。而本试验所采用的蒸发光散射检测器不受流动相光谱本底的干扰,灵敏度及稳定性亦符合含量测定的要求。

本品为藏药复方制剂,所含成分复杂、相互干扰大,试验采用 HPLC-ELSD 法检测那保胶囊中黄芪甲苷的含量,结果稳定、可靠、专属性好,可作为该制剂的质量控制的方法。

根据文献报道, HPLC-ELSD 测定黄芪甲苷时样品的处理方法有超声提取法<sup>[4]</sup>、索氏提取法<sup>[5]</sup>,经实验研究比较,结果表明索氏提取 4 h 后的黄芪甲苷的提取较完全。

#### 参考文献:

- [1] 宋英姬. 薄层扫描法测定栓复康胶囊中黄芪甲苷的含量[J]. 中草药, 2002, 33(12): 1091-1092.
- [2] 王静竹, 闫汝南, 关莹, 等. HPLC 法测定黄芪炮制品中黄芪甲苷含量[J]. 中国中药杂志, 1998, 23(2): 84-85
- [3] 中国药典. 一部[S]. 2005: 213.
- [4] 李涛, 徐长根, 郝武常. HPLC-ELSD 测定桃芪生血胶囊中黄芪甲苷的含量[J]. 中成药, 2005, 27(5): 541-543.
- [5] 张莉, 狄留庆, 赵晓莉, 等. 高效液相色谱法测定通塞脉片中黄芪甲苷的含量[J]. 南京中医药大学学报, 2003, 19(2): 94-95.

[收稿日期] 2006-12-08