

# HPLC-ELSD 法测定香菊片中黄芪甲苷的含量

魏红立<sup>1</sup>, 刘俊霞<sup>2</sup>, 吕勤芝<sup>1</sup> (1. 邢台市食品药品检验所中药室, 河北邢台 054001; 2. 石家庄市第一医院, 河北石家庄 050000)

**摘要** [目的]建立了采用蒸发光散射检测器测定香菊片中黄芪甲苷含量的高效液相色谱法。[方法]色谱柱采用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(250 mm×4.6 mm, 5 μm)。流动相为乙腈:水(32:68),蒸发光散射检测器。[结果]以峰面积积分值的常用对数( $X$ )对进样量的常用对数( $Y$ )线性回归方程为: $Y=1.3346X+5.9293$ ( $r=0.9977$ ),线性范围为0.516~10.320 μg,回收率为91.0%, $RSD$ 为1.8%。[结论]该方法操作简便、测定结果准确、重复性好,可用于香菊片中黄芪甲苷的含量测定。

**关键词** 高效液相色谱法;蒸发光散射检测器;香菊片;黄芪甲苷;含量

中图分类号 S567 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2015)34-144-02

## Determination of the Content of Astragaloside IV from Xiangju tablets by HPLC-ELSD

WEI Hong-li<sup>1</sup>, LIU Jun-xia<sup>2</sup>, LV Qin-zhi<sup>1</sup> (1. Chinese medicine (TCM) room, Xingtai Institute for Food and Drug Control, Xingtai, Hebei 054000; 2. First hospital of Shijiazhuang City, Shijiazhuang, Hebei 050000)

**Abstract** [Objective] The research aimed to establish the high performance liquid chromatography determining the content of astragaloside IV from Xiangju tablets by evaporative light-scattering detector. [Method] Chromatographic column with eighteen alkyl silane bonded silica as filler (250 mm×4.6 mm, 5 μm). Mobile phase was acetonitrile:water(32:68), evaporative light scattering detector. [Result] With the common logarithm of peak area integral value ( $X$ ) and the common logarithm of sample volume ( $Y$ ) linear regression, the regression equation was  $Y=1.3346X+5.9293$ ( $r=0.9977$ ), linear range was 0.516-10.320 μg. The rate of recovery was 91%,  $RSD$  was 1.8%. [Conclusion] The method was simple and reproducible, the determination result was accurate, which can be used for determination the content of Astragaloside IV from Xiangju tablets.

**Key words** HPLC; ELSD; Xiangju tablets; Astragaloside IV; Content

香菊片执行国家食品药品监督管理局标准(试行) YBZ12122004,由化香果序(除去种子)、夏枯草、野菊花、生黄芪、辛夷、防风、白芷、甘草、川芎水煎煮提取加工制成<sup>[1]</sup>,具有辛散祛风、清热通窍,用于治疗急、慢性鼻窦炎、鼻炎<sup>[2-3]</sup>。香菊片质量标准中黄芪甲苷含量测定方法为薄层扫描法,文献报道中有关黄芪甲苷的含量测定方法为高效液相色谱法<sup>[4-6]</sup>,但采用高效液相色谱法测定香菊片中黄芪甲苷含量未见报道。笔者在此建立了采用蒸发光散射检测器测定香菊片中黄芪甲苷含量的高效液相色谱法。

## 1 材料与方

### 1.1 材料

**1.1.1 主要仪器。**高效液相色谱仪(Waters e2695)、2424 蒸发光散射检测器。

**1.1.2 试药和试剂。**黄芪甲苷对照品(110781-200613)购于中国药品生物制品鉴定研究院,乙腈为色谱纯,水为纯化水,其他试剂均为分析纯。香菊片(规格:每片重0.32 g)由陕西白云制药有限公司生产(批号130504)。

### 1.2 方法

**1.2.1 对照品溶液制备。**取黄芪甲苷对照品适量,精密称定,置25 ml量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制成含黄芪甲苷0.5 mg/ml的对照品溶液。

**1.2.2 供试品溶液制备。**取香菊片30片,除去包衣,精密称定,研细,精密称取6 g,加甲醇30 ml置水浴上加热回流1 h,滤过,滤液蒸干,残渣加水20 ml使溶解,用氯仿提取3次,每次20 ml,弃去氯仿液,水液用水饱和的正丁醇提取4次,

每次15 ml,合并正丁醇液,用1%氢氧化钠溶液洗涤3次,每次15 ml,弃去碱液。正丁醇液用水洗至中性,蒸干,残渣加甲醇溶解并转移至5 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,用0.45 μm微孔滤膜过滤,取续滤液作为供试品溶液。

**1.2.3 阴性对照溶液的制备。**按香菊片处方比例称取适量除生黄芪的其余药味,按香菊片的前处理和制剂生产工艺制成缺生黄芪的阴性对照品,按照“1.2.2”方法制成缺生黄芪的阴性对照溶液。

**1.2.4 色谱条件。**色谱柱采用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(250 mm×4.6 mm, 5 μm)。流动相为乙腈:水(32:68),蒸发光散射检测器。

**1.2.5 方法学考察。**

**1.2.5.1 专属性。**在“1.2.4”色谱条件下,分别取对照品溶液、黄芪甲苷阴性对照溶液和香菊片供试品溶液各10 μl,分别进样,记录色谱图,考察方法专属性。

**1.2.5.2 线性关系考察。**分别精密吸取对照品溶液1、2、5、10、15、20 μl,按“1.2.4”色谱条件进行测定,以峰面积积分值的常用对数为纵坐标、黄芪甲苷量的常用对数为横坐标绘制标准曲线,计算回归方程。

**1.2.5.3 稳定性试验。**取同一供试品溶液,在放置0、1、2、4、8、12 h后精密吸取10 μl进样,测定峰面积值,计算 $RSD$ 。

**1.2.5.4 精密度试验。**取对照品溶液重复进样6次,按“1.2.4”色谱条件测定黄芪甲苷的峰面积,计算 $RSD$ 。

**1.2.5.5 重复性试验。**取同一个批号样品,按“1.2.2”方法制备6份供试品溶液,分别测定峰面积,计算 $RSD$ 。

**1.2.5.6 加样回收试验。**取已知含有量(黄芪甲苷0.306 mg/g)的同一批样品(批号130504)适量,研细,取约4 g,精密称定,分别精密加入黄芪甲苷对照品溶液2 ml。按照“1.2.2”制备加标样供试液。精密吸取加标样供试液10 μl,

基金项目 2015年邢台市科技计划项目(2015ZC051)。

作者简介 魏红立(1982-),女,河北邢台人,卫生中级,从事药品检验工作。

收稿日期 2015-10-31

按照上述测定方法测定其峰面积,计算回收率和 *RSD*。

**1.2.6 样品含量的测定。**取生产厂家为陕西白云制药有限公司批号为 130504 的样品,按“1.2.5.2”方法对样品进行含量测定,通过标准曲线计算香菊片中黄芪甲苷的含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 方法学考察

**2.1.1 专属性。**图 1 表明,在“1.2.5.1”条件下样品色谱图

中与黄芪甲苷对照品色谱图相同的保留时间(约 16 min)处有吸收峰,而阴性对照品溶液色谱图在相同保留时间处未显吸收峰,说明样品溶液中的其他成分不影响主成分黄芪甲苷的测定,该方法的专属性良好。

**2.1.2 线性关系的考察。**按照“1.2.5.2”方法操作,计算得回归方程  $Y = 1.3346X + 5.9293$  ( $r = 0.9977$ ),表明黄芪甲苷在 0.516 ~ 10.320  $\mu\text{g}$  范围内进样量与峰面积线性关系良好。

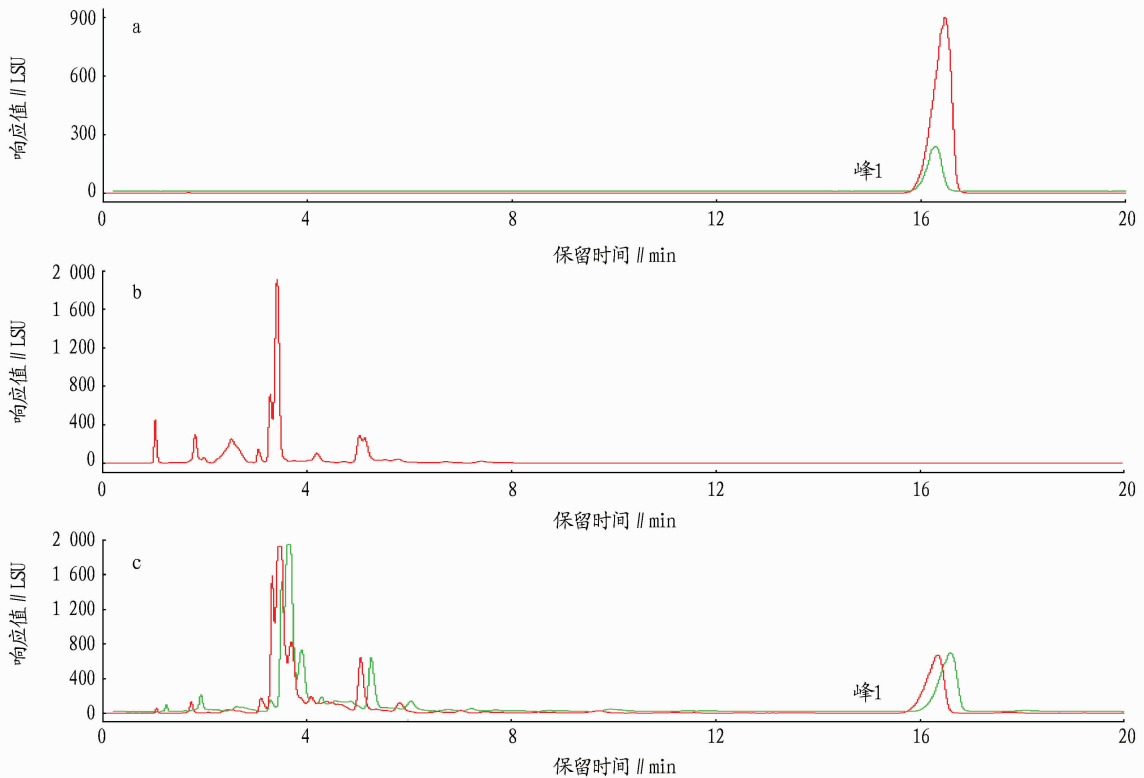


图 1 对照品(a)、阴性对照品(b)和样品(c) HPLC 色谱图

**2.1.3 稳定性试验。**按照“1.2.5.3”方法操作,计算得出峰面积积分值的 *RSD* 为 1.7%,表明供试品溶液在 12 h 内基本稳定。

**2.1.4 精密度试验。**按“1.2.5.4”方法操作,计算得出峰面积积分值的 *RSD* 为 1.9%,表明在此试验条件下精密度良好。

**2.1.5 重复性试验。**按照“1.2.5.5”方法操作,计算含量的 *RSD* 为 1.8%,表明该方法具有较好的重复性。

**2.1.6 加样回收试验。**由表 1 可见,平均回收率为 91.0%, *RSD* 为 1.8%,表明该方法准确、可靠,可用于香菊片中黄芪甲苷的含量测定。

表 1 香菊片中黄芪甲苷的回收率测定结果 ( $n = 6$ )

称样量 g	样品含量 mg	加入量 mg	实际测 得量//mg	回收率 %	平均回 收率//%	<i>RSD</i> %
4.048 9	1.239 0	1.032	2.178 1	91.0	91.0	1.8
4.003 2	1.225 0	1.032	2.155 9	90.2		
3.895 8	1.192 1	1.032	2.113 7	89.3		
4.010 2	1.227 1	1.032	2.191 0	93.4		
3.960 3	1.211 9	1.032	2.166 5	92.5		
3.878 5	1.186 8	1.032	2.112 5	89.7		

**2.2 样品含量测定** 按“1.2.6”方法进行含量测定,结果测得黄芪甲苷的含量为 0.306 mg/g,而按其现行标准国家食品药品监督管理局标准(试行)YBZ12122004 检验,含量测定结果为 0.312 mg/g, *RSD* 为 1.4%。表明该方法可行。

### 3 结论与讨论

生黄芪为方中主要药物,黄芪甲苷是黄芪的主要成分<sup>[1]</sup>。该试验采用 HPLC-ELSD 法代替薄层扫描法测定黄芪甲苷的含量,结果表明,以峰面积积分值的常用对数( $X$ )对进样量的常用对数( $Y$ )线性回归方程为: $Y = 1.3346X + 5.9293$  ( $r = 0.9977$ ),线性范围为 0.516 ~ 10.320  $\mu\text{g}$ ,回收率为 91.0%, *RSD* 为 1.8%。该方法操作简便、测定结果准确、重复性好,克服了薄层扫描操作繁琐、误差较大的缺点,可用于香菊片中黄芪甲苷的含量测定,为提高完善该制剂质量标准提供重要依据。

### 参考文献

- [1] 陕西白云制药有限公司. 国家食品药品监督管理局标准(试行). 香菊片: YBZ12122004[S]. 陕西白云制药有限公司, 2014.
- [2] 刘宇, 龚汉明, 叶吉明. 香菊片对 NIH 小鼠抗炎、镇痛作用的实验研究[J]. 陕西中医, 2006(5): 634-635, 641.

因此该模型拟合程度较好,可用此模型对泽泻挥发油提取工艺进行分析和预测。由回归模型和方差分析可知,方程一次项 A、B、C 和二次项  $A^2$ 、 $B^2$ 、 $C^2$  对泽泻挥发油得率达到了极显著水平 ( $P < 0.01$ ),因素 AC、AB、BC 对泽泻挥发油得率的线性交互效应不显著。

由  $F$  值和图 5 分析可知,料液比(B)对挥发油得率的影响最显著,表现为曲线较陡;超声时间(A)和超声温度(C)次之,各自变量对泽泻挥发油得率的影响为料液比 > 超声时间

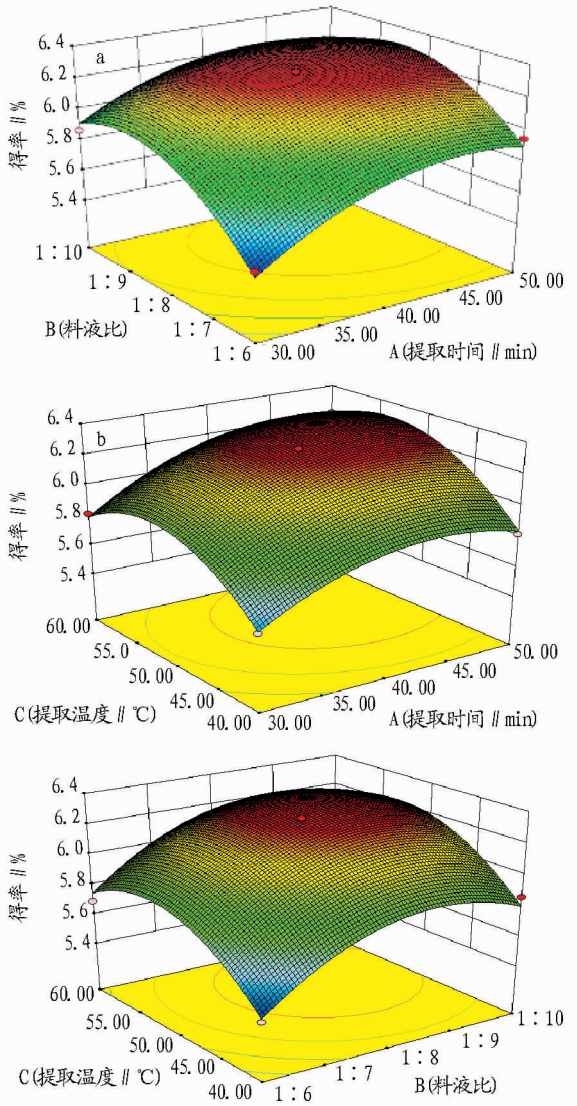
> 超声温度。根据对泽泻挥发油得率的二次多项方程求解,得到最佳提取工艺为提取时间(A)为 41.33 min,料液比(B)为 1:8.27,超声温度(C)为 51.33 °C,挥发油理论得率为 6.334%。考虑试验的可操作性,将最佳提取工艺条件中的超声温度修正为 51.4 °C,依据响应面分析获取修正的最优工艺条件进行 3 次验证试验,结果泽泻挥发油得率平均为 6.315%,实测平均值与理论值非常接近,说明试验值与理论值有较好的拟合性,证实了模型的有效性,该二元多项回归方程为泽泻挥发油提取工艺提供了一个合适的模型。

### 3 结论与讨论

该试验选用超声辅助法提取泽泻挥发油,首先对提取有机溶剂进行考察,得出乙酸乙酯提取率最高,然后在单因素试验的基础上,运用三因素三水平的响应面分析法,以泽泻挥发油提取率为响应面值进行回归分析,建立了泽泻块茎中挥发油提取工艺的二次多项数学模型,通过对该模型求解及其 3D 图的分析,获得了泽泻挥发油提取工艺的最佳工艺为取温度为 41.33 min,料液比为 1:8.27,超声温度为 51.4 °C,在此条件下泽泻块茎挥发油得率最大值为 6.315%。

### 参考文献

- [1] 中华人民共和国药典委员会. 中国药典:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:229.
- [2] DAN H, WU J, PENG M, et al. Hypolipidemic effects of alismatis rhizome on lipid profile in mice fed high-fat diet[J]. Saudi Med J, 2011, 32(7): 701-707.
- [3] LI Q, QU H. Study on the hypoglycemic activities and metabolism of alcohol extract of alismatis rhizoma[J]. Fitoterapia, 2012, 83(6): 1046-1053.
- [4] LEE J H, KWON O S, JIN H G, et al. The rhizomes of alisma orientale and alisol derivatives inhibit allergic response and experimental atopic dermatitis[J]. Biol Pharm Bull, 2012, 35(9): 1581-1587.
- [5] LEE S, KHO Y, MIN B, et al. Cytotoxic triterpenoids from alismatis rhizoma[J]. Arch Pharm Res, 2001, 24(6): 524-526.
- [6] 朱玉凤, 彭国平. 泽泻的蒽类化学成分研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18(2): 348-351.
- [7] 丁霞, 吴水生. 泽泻的研究进展[J]. 中医药信息, 2008, 25(5): 19-21.
- [8] MAKABEL B, ZHAO Y Y, WANG B. Stability and structure studies on alisol a 24-acetate [J]. Chem, Pharm, Bull, 2008, 56(1): 41-45.
- [9] 陈建忠, 李斌, 肖建平, 等. 药对泽泻-白术与其单味药挥发油成分的比较分析[J]. 福建中医药大学学报, 2012, 22(4): 43-46.
- [10] 徐飞, 吴启南, 李兰, 等. 气质联用法分析泽泻中的挥发性成分的研究[J]. 南京中医药大学学报, 2011, 27(3): 277-280.
- [11] 黄罗生, 顾燕飞, 李红. 中药挥发油及芳香性药物的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(12): 1605-1611.
- [12] 温悦. 挥发油提取方法研究概况[J]. 中国药业, 2010, 19(12): 84-85.
- [13] 李健, 宋帅娣, 刘宁, 等. 万寿菊叶精油的提取及化学成分分析[J]. 食品科学, 2010, 31(18): 359-362.
- [14] 肖家军, 王云, 戴仕奎, 等. 苍耳叶挥发油的提取及抑菌和抗氧化性研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(7): 115-118.
- [15] 马戎. 蒸馏法提取橘皮精油及其在卷烟加香中的应用[J]. 江苏农业科学, 2013(3): 249-251.
- [16] 屈二军, 张亚飞, 谢展, 等. 辛夷精油  $CO_2$  超临界提取技术条件优化[J]. 江苏农业科学, 2013(12): 277-279.



注: a. 料液比和提取时间; b. 提取温度和提取时间; c. 提取温度和料液比。

图 5 各自变量交互影响挥发油得率的曲面图

(上接第 145 页)

- [3] 樊青松, 张德贵, 汪和平, 等. 香菊片治疗鼻窦炎药理和临床研究[J]. 陕西中医, 2005, 26(11): 1182-1183.
- [4] 国家药典委员会. 中国药典:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010:616.

- [5] 王敏, 李翔, 王逢春. 黄芪及相关药材 HPLC-ELSD 色谱指纹图谱研究[J]. 华北国防医药, 2010, 22(11): 32-34.
- [6] 胡芳弟, 赵健雄, 封士兰, 等. 黄芪的高效液相色谱法指纹图谱及主成分含量测定[J]. 中药材, 2004, 27(11): 831.