



RP-HPLC-ELSD 同时测定艾迪注射液中 5种苷类成分的含量

陈重, 张苗苗, 李笑然, 许琼明*, 杨世林

(苏州大学药学院, 江苏苏州 215123)

[摘要] 目的:建立同时测定艾迪注射液中5种苷类成分的RP-HPLC-ELSD方法。方法:Kromasil C₁₈色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5.0 μm);流动相乙腈-水,梯度洗脱;流速1 mL · min⁻¹;柱温35℃。SHIMADZU ELSD-LT II型检测器;检测温度40℃;载气高纯氮气;载气压力0.35 MPa。结果:紫丁香苷在21.2~212 mg · L⁻¹,人参皂苷R_{g₁}在30.8~308 mg · L⁻¹,人参皂苷Re在24.8~248 mg · L⁻¹,人参皂苷Rb₁在25.6~256 mg · L⁻¹,黄芪甲苷在31.2~312 mg · L⁻¹,峰面积A的对数值lgA与相应质量M(μg)的对数值lgM呈良好的线性关系(n=6)。5种成分的平均回收率(n=9)均高于97.6%,RSD均小于1.1%。结论:该方法简便、准确,重复性好,为艾迪注射液的质量控制提供了方法。

[关键词] 艾迪注射液;HPLC-ELSD;含量测定

艾迪注射剂是由人参、黄芪、刺五加、斑蝥经提取精制而成的一种新型抗癌注射液,临床上广泛应用于肝癌、肺癌、直肠癌等重大疾病的治疗,疗效显著^[1]。但是,艾迪注射液现执行的质量标准(WS3-B-3809-98)^[2]中含量测定项下采用分光光度法控制人参的含量,并且缺少对黄芪、刺五加的含量测定,质量控制的方法急需提高。为此,本研究选取艾迪注射液中含量较高,且有抗肿瘤活性的紫丁香苷、人参皂苷R_{g₁}、人参皂苷Re、人参皂苷Rb₁、黄芪甲苷为研究对象^[3-5],采用反相高效液相色谱-蒸发光散射检测器同时测定这5种特征性苷类成分的含量。该方法简便、准确,重复性好,检测灵敏度高,且峰形和分离度好,为有效控制艾迪注射液的质量提供了保证。

1 材料

LC-10AB 高效液相色谱仪,ELSD-LT II 蒸发光散射检测器(日本岛津公司),BP210S 电子分析天平(德国赛多利斯公司)。

对照品紫丁香苷(批号111574-200201)、人参皂苷R_{g₁}(批号110703-200424)、人参皂苷Re(批号

110754-200320)、人参皂苷Rb₁(批号110704-200318)、黄芪甲苷(批号110781-200512)购自中国生物制品检定。乙腈为色谱纯,水为2次重蒸水;10个批次的艾迪注射液由贵州益佰药业股份有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5.0 μm);流动相乙腈(A)-水(B),梯度洗脱,0~10 min,5%~20% A;10~35 min,20% A;35~55 min,20%~29% A;55~70 min,29% A;70~100 min,29%~49% A。流速1 mL · min⁻¹;柱温35℃;进样量20 μL。蒸发光散射检测器检测温度40℃;载气高纯氮气,载气压力0.35 MPa。对照品、供试品、阴性样品色谱图见图1。

2.2 样品溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 分别取上述5种苷类化合物对照品适量,精密称定,加甲醇制成含紫丁香苷424 mg · L⁻¹、人参皂苷R_{g₁}615 mg · L⁻¹、人参皂苷Re496 mg · L⁻¹、人参皂苷Rb₁512 mg · L⁻¹、黄芪甲苷624 mg · L⁻¹的混合对照品溶液。

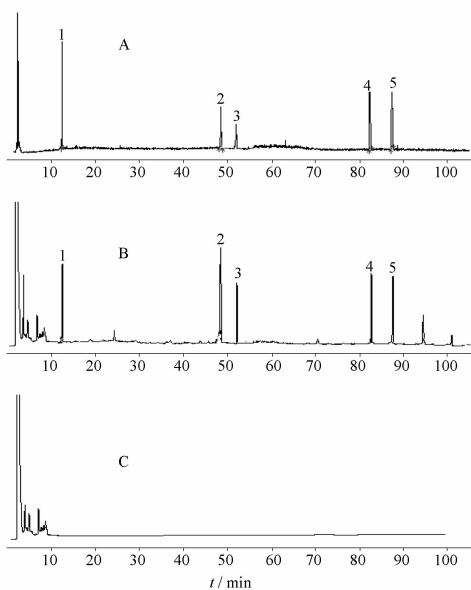
2.2.2 供试品溶液的制备 精密量取艾迪注射液50 mL,水浴蒸至近干,甲醇溶解,转移至10 mL量瓶中,定容;0.45 μm 滤膜过滤,即得。

2.2.3 阴性样品溶液 按处方比例和工艺,取斑蝥按上述供试品溶液的制备方法制成阴性样品溶液。

[稿件编号] 20110215006

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2009ZX09308-003,2011ZX09201-201-16)

[通信作者] * 许琼明,副教授,硕士生导师,Tel:(0512)69561421,E-mail:xuqiongming@suda.edu.cn



1. 紫丁香苷; 2. 人参皂苷 Rg₁;
3. 人参皂苷 Re; 4. 人参皂苷 Rb₁; 5. 黄芪甲苷。

图1 对照品(A)、供试品(B)、阴性样品(C)的HPLC图

依法测定,结果表明在测定条件下无干扰。

2.3 线性关系的考察

分别精密移取对照品溶液 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 摇匀, 在上述色谱条件下进行分析。以各对照品质量 $M(\mu\text{g})$ 的对数值 $\lg M$ 为横坐标, 峰面积 A 的对数值 $\lg A$ 为纵坐标, 绘制标准曲线。紫丁香苷、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁、黄芪甲苷的回归方程分别为 $\lg A = 1.254\ 1 \lg M + 5.498\ 7$ ($r = 0.999\ 6$), $\lg A = 1.536\ 8 \lg M + 6.320\ 5$ ($r = 0.999\ 4$), $\lg A = 1.548\ 1 \lg M + 6.182\ 1$ ($r = 0.999\ 7$), $\lg A = 1.521\ 3 \lg M + 6.254\ 6$ ($r = 0.999\ 3$), $\lg A = 1.379\ 6 \lg M + 5.690\ 2$ ($r = 0.999\ 8$)。结果表明, 5 个测定成分分别在 21.2 ~ 212, 30.8 ~ 308, 24.8 ~ 248, 25.6 ~ 256, 31.2 ~ 312 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ $\lg M$ 与 $\lg A$ 呈良好的线性关系。

2.4 精密度试验

取对照品溶液, 按上述色谱条件连续进样 6 次, 计算峰面积的 RSD 分别为 0.9%, 1.3%, 1.6%, 1.0%, 0.5%, 表明仪器精密度良好。

2.5 重复性试验

取艾迪注射液一批(批号 20100801), 按 2.2.2 项下方法平行制备供试品溶液 6 份, 分别进样 20

μL , 测得紫丁香苷、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁、黄芪甲苷 RSD 分别为 1.6%, 1.8%, 1.1%, 1.3%, 1.8%, 表明该方法的重复性良好。

2.6 稳定性试验

取艾迪注射液供试品溶液, 室温下放置, 分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样, 紫丁香苷、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Re、人参皂苷 Rb₁、黄芪甲苷含量的 RSD 分别为 1.8%, 1.6%, 2.0%, 1.2%, 1.4%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.7 回收率试验

分别精密量取含量已知的艾迪注射液(批号 20100801) 25 mL, 共 9 份, 水浴蒸至近干, 甲醇溶解, 转移至 10 mL 量瓶中, 3 份为 1 组, 分别精密加入对照品溶液 2.0, 1.6, 1.3 mL, 按 2.2.2 项下方法, 制成高、中、低 3 个质量浓度的溶液。在上述色谱条件下, 分别进样 20 μL , 计算平均回收率, 结果见表 1。

表 1 5 个被测成分加样回收率

化合物	样品 中量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
紫丁香苷	0.702 5	0.551 2	1.229 2	95.6	98.0	1.0
		0.551 2	1.242 4	97.9		
		0.551 2	1.244 9	98.4		
		0.678 4	1.364 7	97.6		
		0.678 4	1.370 4	98.5		
		0.678 4	1.369 8	98.4		
		0.848 0	1.543 5	99.2		
		0.848 0	1.530 0	97.6		
		0.848 0	1.537 5	98.5		
		人参皂苷 Rg ₁	1.407 5	0.799 5		
0.799 5	2.199 1			99.0		
0.799 5	2.190 1			97.9		
0.984 0	2.369 0			97.7		
0.984 0	2.366 6			97.5		
0.984 0	2.367 8			97.6		
1.230 0	2.594 2			96.5		
1.230 0	2.612 9			98.0		
1.230 0	2.606 6			97.5		
人参皂苷 Re	1.050 0			0.644 8	1.688 4	99.0
		0.644 8	1.677 8	97.4		
		0.644 8	1.681 2	97.9		
		0.793 6	1.823 5	97.5		
		0.793 6	1.830 1	98.3		
		0.793 6	1.814 6	96.3		
		0.992 0	2.021 8	98.0		
		0.992 0	2.015 9	97.4		
		0.992 0	2.009 9	96.8		
		人参皂苷 Rb ₁	1.275 0	0.665 6	1.933 8	99.0
0.665 6	1.920 1			96.9		



续表 1

化合物	样品 中量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回 收率/%	RSD /%
黄芪甲苷	0.552 5	0.665 6	1.928 9	98.2	97.9	0.80
		0.819 2	2.061 7	96.0		
		0.819 2	2.065 5	96.5		
		0.819 2	2.082 3	98.5		
		1.024 0	2.265 3	96.7		
		1.024 0	2.273 2	97.5		
		1.024 0	2.285 9	98.7		
		0.811 2	1.347 7	98.0		
		0.811 2	1.339 8	97.0		
		0.811 2	1.354 5	98.9		
		0.998 4	1.528 6	97.8		
		0.998 4	1.539 3	98.8		
		0.998 4	1.522 7	97.2		
		1.248 0	1.782 2	98.5		
		1.248 0	1.782 7	98.6		
		1.248 0	1.760 9	96.8		

2.8 样品含量测定 取 10 批次艾迪注射液,按 2.2.2 项下方法操作。在上述色谱条件下测定,计算样品中目标检测物的含量,结果见表 2。

3 结论

艾迪注射液现行质量标准(WS₃-B-3809-98)^[2]中“含量测定”项用分光光度法测人参总皂苷的含量,供试品溶液的制备需用氯仿、水饱和正丁醇反复萃取,而后经大孔吸附树脂分离,显色后测定,费时费力,结果干扰大、重现性差。本研究提供一种同时测定艾迪注射液中 5 种特征成份的方法,填补了原

表 2 艾迪注射液中 5 个有效成分的质量分数 mg · L⁻¹

批号	紫丁香苷	人参皂苷 Rg ₁	人参皂苷 Re	人参皂苷 Rb ₁	黄芪 甲苷
20100801	28.1	56.3	42.0	51.0	22.1
20100802	32.0	64.1	38.9	54.3	24.2
20100803	30.8	62.3	40.4	49.2	21.1
20100804	31.4	58.4	36.8	52.1	23.3
20100901	32.1	57.2	41.5	53.4	19.9
20100902	31.4	64.5	42.3	55.6	20.2
20100903	29.9	63.4	39.7	49.8	22.7
20101001	28.4	61.3	42.1	48.9	23.6
20101002	30.6	62.8	39.6	47.0	22.2
20101003	32.3	58.9	43.4	52.2	20.8

质量标准含量测定项下缺失黄芪、刺五加控制的不足。

[参考文献]

- [1] 朱广媛,李东华,张树范,等.艾迪注射液的临床研究进展[J].中医药学报,2010,38(1):123.
- [2] 国家卫生部.中华人民共和国卫生部药品标准[M].北京:人民卫生出版社,1998:85.
- [3] 汪琢,姜守刚,祖元刚,等.刺五加中紫丁香苷的提取分离及抗肿瘤作用研究[J].时珍国医国药,2010,21(3):752.
- [4] 张经纬,王广基,孙建国,等.人参皂苷 Rg₁ 的药效学和药代动力学研究进展[J].中国药科大学学报,2007,38(3):283.
- [5] 刘明华,任美萍,陈健平,等.黄芪皂苷抗肿瘤活性研究[J].中药药理与临床,2009,25(2):68.

Simultaneous determination of five glycosides in Aidi injection by RP-HPLC-ELSD

CHEN Zhong, ZHANG Miaomiao, LI Xiaoran, XU Qiongmings*, YANG Shilin
(College of Pharmaceutical Science, Soochow University, Suzhou 215123, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a RP-HPLC-ELSD method for the simultaneous determination of five glycosides in Aidi injection. **Method:** The separation was carried out at 35 °C on a Kromasil C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) eluted with acetonitrile and water as the mobile phases in gradient mode. The flow rate was 1.0 mL · min⁻¹. The SHIMADZU ELSD-LT II detector was used. The detector temperature was at 40 °C and the pressure of carrier gas N₂ was 0.35 MPa. **Result:** The linear response (the natural logarithm of peak areas with corresponding mass) ranges were 21.2-212 mg · L⁻¹ for syringin, 30.8-308 mg · L⁻¹ for ginsenoside Rg₁, 24.8-248 mg · L⁻¹ for ginsenoside Re, 25.6-256 mg · L⁻¹ for ginsenoside Rb₁, 31.2-312 mg · L⁻¹, for astragaloside IV, respectively. The average recoveries (n=9) of five glycosides were greater than 97.6%, and RSD were less than 1.1%. **Conclusion:** The results demonstrated that this method had adequate accuracy and selectivity to measure the concentrations of five glycosides in Aidi injection.

[Key words] Aidi injection; HPLC-ELSD; assay

doi:10.4268/cjcm20110611

[责任编辑 马超一]