

高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定 苦瓜降糖丸中黄芪甲苷的含量

史磊, 李永吉, 孙凌, 孙爽, 郭玉岩

(黑龙江中医药大学药学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要: 目的 建立高效液相色谱-蒸发光散射检测(HPLC-ELSD)法测定苦瓜降糖丸中黄芪甲苷的含量。方法 色谱柱为Diamonsil(钻石) C_{18} 柱(200 mm×4.6 mm, 5 μ m), 柱温为30 $^{\circ}$ C, 流动相为乙腈-水(36:64), 流速为1.0 mL/min; ELSD条件为漂移管温度105 $^{\circ}$ C, 氮气流速3.0 L/min。结果 黄芪甲苷进样量在2.5~20.0 μ g范围内与峰面积线性关系良好, $r=0.9997$, 平均加样回收率为100.82%, RSD=1.73% ($n=3$)。结论 应用本方法所得标准曲线线性关系良好, 经方法学考察, 该测定方法合理、准确、可靠, 可用于苦瓜降糖丸的质量控制。

关键词: 高效液相色谱-蒸发光散射法; 苦瓜降糖丸; 黄芪甲苷; 含量测定

DOI: 10.3969/j.issn.1005-5304.2010.10.019

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 1005-5304(2010)10-0045-02

HPLC-ELSD Determination of Astragaloside IV in Kuguajiangtang Wan SHI Lei, LI Yong-ji, SUN Ling, et al (Pharmacology College of Heilongjiang University of TCM, Harbin 150040, China)

Abstract: Objective To establish a HPLC-ELSD method to determine the content of astragaloside IV in Kuguajiangtang Wan. Methods Diamonsil C_{18} column (200 mm×4.6 mm, 5 μ m) was employed, and its temperature was 30 $^{\circ}$ C. Axetonitrile-water (36:64) was the mobile phase at the flow rate of 1.0 mL/min. ELSD inlet heater was set at 105 $^{\circ}$ C, and N_2 flow rate was 3.0 L/min. Results The calibration curve of astragaloside IV was linear in the range of 2.5~20.0 μ g ($r=0.9997$). The average recovery was 100.82%, RSD=1.73% ($n=3$). Conclusion The linear relationship obtained by the application of this method is very good. The method is reasonable, accurate, reliable, and can be used for the quality control of Kuguajiangtang Wan.

Key words: HPLC-ELSD; Kuguajiangtang Wan; astragaloside IV; content determination

苦瓜降糖丸由黑龙江中医药大学药剂实验室研制, 由黄芪、西洋参、苦瓜、葛根等10味中药组成, 具有滋阴清热、补肾健脾、益气养阴、活血化痰的作用, 用于糖尿病的治疗。方中黄芪为君药。笔者参照2005年版《中华人民共和国药典》

(一部)黄芪含量测定方法^[1], 以黄芪甲苷为指标成分, 采用高效液相色谱-蒸发光散射检测(HPLC-ELSD)法测定方中黄芪甲苷的含量, 旨在为该制剂的质量评价提供依据。

1 仪器与试药

Waters2996高效液相色谱仪(美国Waters公司); Alltech 2000-ELSD检测器(美国Alltech公司)。黄芪甲苷对照品(批

通讯作者: 李永吉, Tel: 0451-82196339

4 讨论

在大黄定性鉴别过程中, 先按照药典的方法试验, 分离度差, 增大石油醚的比例, 即以石油醚-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1)为展开剂, 分离效果较好, 而且阴性样品无干扰。

含量测定的前处理方法, 曾用水溶解, 正丁醇萃取3次, 蒸干后用50%甲醇定容。结果表明, 此方法处理供试品杂质较多, 分离效果不理想。故采用30%的乙醇加热回流提取, 效果较好。

在选择流动相时, 先后用不同比例的甲醇-水溶液为流动相, 结果表明, 采用甲醇-水溶液(25:75)为流动相的葛根素峰已达到基线分离, 分离度较好, 理论塔板数按葛根素峰计算不少于2500, 峰形对称。

本次试验中, 葛根、大黄、补骨脂、丹参的TLC鉴别, 特征斑点明显, 阴性对照无干扰; 对葛根素的含量测定, 方法简单,

专属性强, 重复性好, 可作为该制剂的质量控制标准。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 78-79.
- [2] 王志安, 王晓丹, 李志明. 人参毒胶囊质量标准的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2001, 7(3): 6-7.
- [3] 郭长强, 刘金星, 张敏, 等. 益精补肾颗粒质量标准研究[J]. 中成药, 2004, 26(9): 716-717.
- [4] 赵艳普, 卢美霞, 杨朋秀. 成方制剂中丹参的鉴别方法探讨[J]. 中草药, 1999, 30(9): 703-704.
- [5] 陈发奎. 常用中草药有效成份含量测定[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997. 72-73.

(收稿日期: 2010-02-03, 编辑: 陈静)

号 200613, 中国药品生物制品检定所); 苦瓜降糖丸(浓缩丸, 批号 20090701, 黑龙江中医药大学药剂实验室自制)。乙腈(色谱纯), 超纯水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与蒸发光散射条件

色谱柱: Diamonsil(钻石)C₁₈柱(200 mm×4.6 mm, 5 μm); 柱温: 30 ℃; 流动相: 乙腈-水(36:64); 流速: 1.0 mL/min。ELSD 条件为漂移管温度 105 ℃, 氮气流速 3.0 L/min。

2.2 溶液的制备

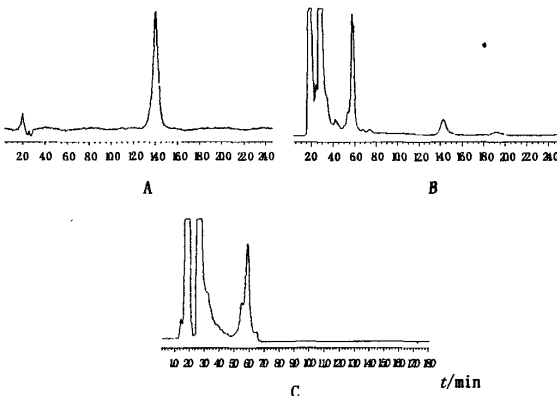
2.2.1 对照品溶液的制备 精密称定黄芪甲苷对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品适量, 研细, 取约 5 g, 精密称定。置索氏提取器中, 加甲醇适量, 加热回流提取 4 h, 滤过, 滤液回收甲醇至干; 残渣加水 25 mL, 微热使溶解, 用乙醚轻摇洗涤 2 次, 每次 20 mL; 弃去乙醚液, 水层用水饱和的正丁醇振摇提取 5 次, 每次 20 mL; 合并正丁醇液, 用氨试液洗涤 3 次, 每次 40 mL; 正丁醇液回收溶剂至干, 残渣加甲醇使溶解, 转移至 5 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 即得。

2.2.3 阴性对照品溶液的制备 取不含黄芪的阴性样品, 按照供试品溶液的制备方法制得阴性对照品溶液。

2.3 阴性干扰试验

分别吸取对照品溶液、供试品溶液以及阴性对照品溶液各 20 μL 注入高效液相色谱仪, 按上述色谱条件测定并记录色谱图(见图 1)。结果表明, 阴性对照品溶液色谱在与对照品色谱峰相应的保留时间处无色谱峰, 表明空白无干扰。



注: A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照品

图 1 苦瓜降糖丸 HPLC 图谱

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系考察 精确称取黄芪甲苷对照品 10 mg, 置于 20 mL 容量瓶中, 加甲醇适量, 超声使溶解, 再加甲醇定容, 摇匀。分别精密量取上述溶液 2、3、4、5、6 mL 置 10 mL 容量瓶中, 加甲醇定容, 各精密吸取 10 μL, 分别注入高效液相色谱仪进行测定。以峰面积为纵坐标, 以对照品溶液进样量为横坐标绘制标准曲线, 线性回归方程为: Y=1.52e+006X-2.12e+006, r=0.9997。结果表明, 黄芪甲苷进样量在 2.5~20.0 μg 范围内与峰面积线性关系良好。

2.4.2 稳定性试验 取同一供试品溶液, 室温下放置, 分别于 0、4、8、12、24 h 取样依法测定。结果黄芪甲苷峰面积的 RSD=1.44%, 小于 2.0%(n=6), 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.4.3 精密度试验 吸取对照品贮备溶液(0.512 2 mg/mL), 依法连续进样 5 次。结果峰面积分别为 380 690、369 028、392 761、392 982、392 927。RSD=2.79%(n=5), 表明仪器精密密度良好。

2.4.4 重复性试验 取同一批号样品, 按“2.2.2”项下方法制备 5 份供试品溶液, 分别进样, 测定黄芪甲苷峰面积, 计算含量。结果黄芪甲苷含量分别为 1.173 0、1.217 6、1.180 7、1.178 6、1.187 6 mg/g, RSD=1.48%(n=5), 表明测定方法重复性良好。

2.4.5 加样回收率试验 精密称取已知含量的苦瓜降糖丸粉末 5 份, 分别加入一定量的黄芪甲苷对照品贮备液(0.512 2 mg/mL), 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 进样量 20 μL, 测定黄芪甲苷的含量, 结果测得加样回收率平均值为 100.82%, RSD=1.73%。表明该测定方法结果准确, 见表 1。

表 1 黄芪甲苷加样回收率试验结果(n=3)

样品量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均值(%)	RSD(%)
0.842 1	1.00	1.843 2	100.11		
0.849 3	1.00	1.876 9	102.76		
0.833 5	1.00	1.826 3	99.28	100.82	1.73
0.853 2	1.00	1.879 5	102.63		
0.831 4	1.00	1.824 7	99.34		

2.5 样品含量测定

称取不同批号的苦瓜降糖丸样品 5 份, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定含量。结果 5 批样品的黄芪甲苷含量分别为 1.2029、1.2132、1.1907、1.2186、1.187 6 mg/g。

3 讨论

蒸发光散射检测器是一种通用型质量检测器, 尤其适用于黄芪甲苷这类没有紫外吸收的皂苷类化合物。经试验验证准确、无误。但对于一些挥发性比较强的成分, 可能在较高的温度下会随着流动相挥发成气体状态, 不适用于 ELSD 检测。本试验进行含量测定的成分黄芪甲苷即为一种不挥发性成分。

供试品溶液的制备系参照 2005 年版《中华人民共和国药典》(一部)中“黄芪含量测定中供试品溶液的制备”进行处理。本供试品溶液制备方法与药典的不同之处在于, 使用了乙醚对样品溶液进行洗涤, 目的是去除植物色素, 避免干扰; 本方法中没有使用大孔吸附树脂进行样品溶液的处理, 原因在于苦瓜降糖丸在制备工艺过程中已经进行了大孔吸附树脂的纯化处理。

本试验采用 HPLC-ELSD 法测定复方制剂苦瓜降糖丸中黄芪甲苷的含量, 结果可靠, 重复性好, 适用于该制剂的质量评价。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005. 213.

(收稿日期: 2010-02-03, 编辑: 陈静)

高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定苦瓜降糖丸中黄芪甲苷的含量

作者: [史磊](#), [李永吉](#), [孙凌](#), [孙爽](#), [郭玉岩](#)
作者单位: [黑龙江中医药大学药学院, 黑龙江, 哈尔滨, 150040](#)
刊名: [中国中医药信息杂志](#) 
英文刊名: [CHINESE JOURNAL OF INFORMATION ON TRADITIONAL CHINESE MEDICINE](#)
年, 卷(期): [2010, 17\(10\)](#)

参考文献(1条)

1. [国家药典委员会](#) [中华人民共和国药典\(一部\)](#) 2005

本文读者也读过(10条)

1. [张铭玉](#) [高效液相色谱法测定黄芪中的黄芪甲苷分析](#)[期刊论文]-[中医临床研究](#)2009, 1(1)
2. [刘泽君](#) [苦瓜的药用](#)[期刊论文]-[开卷有益\(求医问药\)](#) 2006(11)
3. [葛进军](#), [韩进](#), [朱振洪](#), [张宇燕](#), [万海同](#) [HPLC-ELSD测定养阴通脑制剂中黄芪甲苷含量](#)[会议论文]-2010
4. [齐菲](#), [侯连兵](#) [高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定因宁片中黄芪甲苷的含量](#)[期刊论文]-[医药导报](#)2006, 25(12)
5. [董晓茜](#), [李想](#), [单玉](#), [石继亮](#), [张振秋](#) [HPLC-ELSD测定黄芪、苦参药对提取物中黄芪甲苷的含量](#)[会议论文]-2009
6. [唐丽香](#), [TANG Li-Xiang](#) [ELSD-HPLC法测定前列通胶囊中黄芪甲苷的含量](#)[期刊论文]-[海峡药学](#)2010, 22(8)
7. [林朝展](#), [杨金燕](#), [柏宁宁](#), [祝晨蓀](#), [LIN Chao-zhan](#), [YANG Jin-yan](#), [BAI Ning-ning](#), [ZHU Chen-chen](#) [高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定童康片中黄芪甲苷的含量](#)[期刊论文]-[时珍国医国药](#)2007, 18(6)
8. [马玲](#), [王坤](#), [张芦燕](#), [丁万隆](#), [王英华](#) [HPLC-ELSD法测定不同栽培年限黄芪中黄芪甲苷的含量](#)[会议论文]-2006
9. [罗春燕](#), [海晨](#) [芹菜和苦瓜, 你会如何吃?](#)[期刊论文]-[糖尿病新世界](#)2009(9)
10. [杨庆胜](#), [李彩荣](#), [赵雪晖](#), [Yang Qingsheng](#), [Li Cairong](#), [Zhao Xuehui](#) [HPLC-ELSD测定补益蒺藜片中黄芪甲苷的含量](#)[期刊论文]-[甘肃中医学院学报](#)2005, 22(1)

引证文献(1条)

1. [朱克旭](#), [李永宏](#), [刘冰冰](#) [HPLC-ELSD法测定芪心合剂中黄芪甲苷的含量](#)[期刊论文]-[安徽医药](#) 2011(11)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zgzyyxxzz201010019.aspx