

RP-HPLC 法测定芦荟中芦荟苷的含量

中日友好临床医学研究所(北京 100029) 张永文* 陈玉武 李克明

摘要 应用反相 HPLC 法测定芦荟苷(aloin)的含量。用 SUPELCO LC-18(250 mm×4.6 mm, 5 μm)层析柱,流动相:乙腈-0.01 mol/L 三氟醋酸(22:78),流速:1 mL/min,检测波长:359 nm,柱温:室温,用外标法测定。芦荟苷的平均回收率为 98.37%,其检测线性范围为 50~250 μg/mL,回归方程: $Y=0.269+54.723 X$, $r=0.9999$ 。本法灵敏、简便,重现性好。

关键词 芦荟 芦荟苷 HPLC 法 含量测定

Determination of Aloin in Barbados Aloe (*Aloe barbadensis*) and Robust Aloe (*Aloe ferox*) by RP-HPLC

Zhang Yongwen, Chen Yuwu and Li keming (China-Japan Friendship Institute of Clinical Medical Sciences, Beijing 100029)

Abstract A RP-HPLC method was developed for the determination of aloin in *Aloe barbadensis* Mill. and *A. ferox* Mill. An ODS column was used with the mobile phase of acetonitrile-0.01 mol/L trifluoroacetic acid (22:78) at a flow rate of 1 mL/min. Samples were detected at 359 nm and at room temperature. External standard was used and the calibration curve was linear over the range of 50~250 μg/mL ($r=0.9999$). The extraction recovery rate was 98.37%. This method is sensitive, simple and well reproducible.

Key words *Aloe barbadensis* Mill. *Aloe ferox* Mill. RP-HPLC

中药芦荟具清肝热、通便的作用,用于便秘、小儿疳积、惊风,外治湿癣^[1]。现代药理实验证明芦荟有抗肿瘤、抗菌、对心血管系统、对免疫系统及炎症、抗胃损伤及保肝作用等^[2]。药材来源为百合科植物库拉索芦荟 *Aloe barbadensis* Miller、好望角芦荟 *A. ferox* Miller 或其他同属近缘植物叶的液汁浓缩干燥物^[1]。由于来源多样,有效成分含量不一,其质量控制对药材使用尤显重要。芦荟苷为芦荟中的主要有效成分之一,通过测定芦荟苷的含量来控制芦荟质量是行之有效的方法。

以往对芦荟苷的含量测定多采用比色法、紫外分光光度法、色谱-分光光度法等^[2],干扰因素较多。本文采用高效液相色谱法测定芦荟药材中芦荟苷的含量,以便更好地为

药材质量控制提供依据。

1 仪器与试剂

美国 Waters 501 型泵,U6K 进样器,美国 Beckman 163 型可变波长紫外检测器和 427 型积分记录仪;紫外吸收光谱用日立 557 型分光光度仪测定。乙腈:色谱纯,水:Millipore-Q 过滤高纯水,三氟醋酸:Merck 试剂。芦荟苷标准品:购于中国药品生物制品检定所。芦荟生药(1998 年 3 月购自北京市药材公司,标本样品存于中日友好临床医学研究所药物药理室)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:美国 SUPELCO LC-18 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),柱温为室温;流动相:乙腈-0.01 mol/L 三氟醋酸(22:78),流速:1.0 mL/min;检测波长:359 nm,检测

* Address: Zhang Yongwen, China-Japan Friendship Institute of Clinical Medical Sciences, Beijing

器灵敏度:0.05 AUFS。

应用上述条件,取芦荟苷 0.112 mg/mL 的甲醇溶液进行测定,理论塔板数可达 6 000 以上(图 1)。



A-芦荟苷(1)

B-样品

图 1 芦荟样品 HPLC 图

2.2 标准曲线制备:精密称取干燥至恒重的芦荟苷对照品适量(约 12.5 mg)至 20 mL 容量瓶中,加甲醇溶至刻度、摇匀,配成 0.5 mg/mL 的溶液;分别精密吸取上述溶液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL,置 10 mL 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度。各进样 10 μ L,按上述色谱分离条件进行 HPLC 测定,对照品峰面积积分值与对照品量(μ g)呈线性关系,线性范围为 50~250 μ g/mL,回归方程为 $Y=0.269+54.723 X$, $r=0.9999$ 。

2.3 样品测定:称取本品细粉 50 mg,精密称定,置 50 mL 容量瓶中,加入甲醇 45 mL,超声提取 30 min,加甲醇溶解至刻度,充分摇匀,经 0.45 μ m 微孔滤膜过滤,取续滤液照芦荟含量测定方法进行测定。精密吸取供试品溶液 10 μ L,以外标法计算得本品芦荟苷($C_{21}H_{22}O_9$)含量为 136 mg/g, $RSD=1.7\%$ ($n=6$)。

2.4 回收率试验:精密称取已知含量的芦荟粉末,加入一定量的芦荟苷对照品,按样品测定项下所述方法处理,测定芦荟苷含量,计算其平均回收率为 98.37%, $RSD=0.89\%$ ($n=6$)。

2.5 精密度试验:精密吸取上述对照溶液 10 μ L,重复进样 5 次,芦荟苷峰面积积分值的 $RSD=0.67\%$ ($n=5$)。

2.6 重现性试验:按上述含量测定方法,精密称取同一芦荟样品粉末 40 mg,制备供试液,HPLC 测定并计算芦荟苷含量, $RSD=1.84\%$ ($n=5$)。

3 讨论

3.1 通过实验比较,用不同比例的乙腈-水、甲醇-水为流动相的 HPLC 法测定芦荟中芦荟苷的含量,均难以与其它杂质成分有效分离,样品峰的重迭将导致含量测定结果偏高。本法选用乙腈-0.01 mol/L 三氟醋酸(22:78)为流动相,芦荟苷与其它杂质成分能达到较高的分离度,理论塔板数高,准确性高。

3.2 芦荟苷在甲醇中溶解度最大^[3],因此选用甲醇制备样品供试液。实验比较了用甲醇直接冷浸过液、超声提取 30 min 和加热回流 1 h 3 种提取方法,发现前两种方法得到的含量测定结果相近,而回流提取 1 h 含量偏低,可能加热导致了部分芦荟苷的破坏,故选用了超声 30 min 的提取方式。

参考文献

- 1 中华人民共和国药典(一部).1995:139
- 2 阴 健,等.中药现代研究与临床应用(1).北京:学苑出版社,1993:348
- 3 The Merck Index,第 10 版,1983:46

(1998-08-11 收稿)

欢迎投稿 欢迎订阅