

表 1 胃康胶囊中的人参皂苷 R_{b1} 和人参皂苷 R_{g1} ($n=3$)

Table 1 Results of determination for ginsenosides R_{b1} and R_{g1} in Weikang Capsules ($n=3$)

批号	人参皂苷 R_{b1} / (mg · 粒 ⁻¹)	RSD / %	人参皂苷 R_{g1} / (mg · 粒 ⁻¹)	RSD / %
040614	2.01	2.43	2.57	1.98
040616	1.98	1.94	2.60	2.01
040618	1.96	1.58	2.58	2.00

10 : 20); 正丁醇-醋酸乙酯-水 (4 : 1 : 5); 氯仿-醋

酸乙酯-甲醇-水 (15 : 40 : 22 : 10); 氯仿-甲醇-水 (13 : 7 : 2)。在胃康胶囊测定方法研究过程中, 发现展开系统氯仿-甲醇-水 (13 : 7 : 2) 较氯仿-醋酸乙酯-甲醇-水 (15 : 40 : 22 : 10) 分离效果更好, 斑点更圆整, 所以选用该系统为分离条件。

薄层显色过程中, 显色剂 10% 硫酸乙醇溶液的用量不可过大, 以免扫描时背景颜色过深, 影响实验结果。

HPLC-ELSD 法测定益气糖康胶囊中黄芪甲苷

向 静¹, 陈 勇^{1*}, 熊富良², 王玉巧²

(1. 湖北大学 中药生物技术省重点实验室, 湖北 武汉 430062;

2. 湖北省中药现代化工程技术研究中心, 湖北 武汉 430052)

益气糖康胶囊由绞股蓝、黄芪、葛根等组成, 具有益气养阴、温阳活血等作用, 主要用于气阴两虚症糖尿病的辅助治疗。黄芪为方中君药, 其主要成分有皂苷、多糖、氨基酸等, 具有促进免疫反应等活性。为了有效控制益气糖康胶囊中黄芪甲苷的内在质量, 本实验参考有关文献报道^[1,2], 采用 HPLC-ELSD 测定法对本制剂中黄芪甲苷进行了测定。

1 实验材料

1.1 仪器: 日本岛津 10A 高效液相色谱仪; HW-2000 色谱工作站 (2.11 版); SEDEX75 型 ELSD 检测仪。

1.2 药品: 益气糖康胶囊 (武汉健民科研所提供, 批号分别为 20040701、20040702、20040703); 黄芪甲苷对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号 0781-9807); 甲醇为色谱纯; 水为重蒸水; 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Kromasil-C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 柱温 25 °C, 甲醇-水 (80 : 20) 为流动相; 体积流量为 1.0 mL/min; ELSD 条件: 漂移管温度 40 °C, 氮气压为 3.5 × 10⁵ Pa。理论塔板数以黄芪甲苷峰计不低于 3 000, 色谱图见图 1。

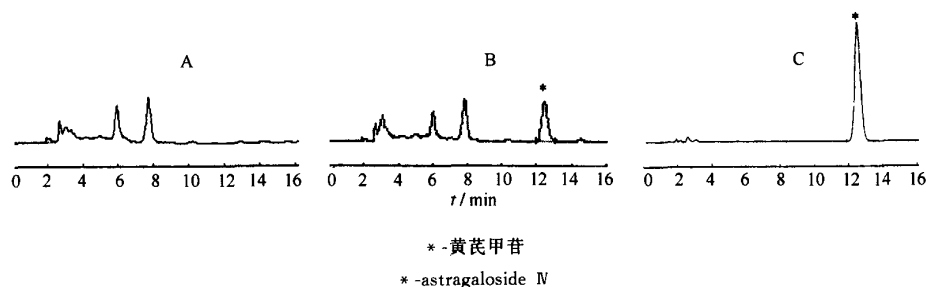


图 1 阴性样品(A)、益气糖康胶囊(B)和黄芪甲苷对照品(C)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of negative sample (A), Yiqi Tangkang Capsules (B), and astragaloside IV reference substance (C)

2.2 供试品溶液的制备: 取益气糖康胶囊约 5 g 研细, 精密称定后加甲醇溶液 50 mL 超声提取 1 h, 滤过并将滤液蒸干, 残渣加水 20 mL 使之溶解, 用水饱和的正丁醇振摇萃取 3 次 (每次 25 mL), 合并正

丁醇提取液, 接着用氨试液洗涤两次 (每次 25 mL), 弃去氨溶液, 将正丁醇溶液蒸干, 残渣加热水 10 mL 溶解, 放冷后通过 D-101 大孔吸附树脂柱 (内径 1.5 cm, 长 12 cm), 用 80 mL 水淋洗树脂柱并弃去淋洗

水溶液,再用 40%乙醇 40 mL 淋洗并弃去淋洗液,最后用 90%乙醇 50 mL 洗脱,收集洗脱液并蒸干,用甲醇转溶并定容至 5 mL 量瓶中,摇匀即得供试品溶液。供试品溶液经 0.45 μm 微孔膜滤过后进样分析。

2.3 空白试验:取不含黄芪阴性样品约 5 g,按“供试品溶液的制备”方法制得阴性样品溶液。取 10 μL 进行分析,在黄芪甲苷出峰时间附近无吸收峰出现,即阴性样品对黄芪甲苷没有干扰。

2.4 线性关系的考察:精密配制不同质量浓度系列黄芪甲苷溶液进行分析,进样体积 10 μL 。对色谱峰面积的对数值(Y)与以进样量的对数值(X)进行线性回归处理,得线性回归方程为: $Y=1.5652X+5.1139$, $r=0.9999$,线性范围为 1.19~5.94 μg 。

2.5 精密度试验:以 0.396 0 mg/mL 黄芪甲苷对照品溶液为考察对象,连续进样 5 次,其峰面积的 RSD 值为 1.41%。

2.6 稳定性试验:取批号为 20040701 的供试品溶液,每隔 2 h 进样 10 μL ,测定 1 次,共测定 5 次,其峰面积的 RSD 值为 1.72%。

2.7 重现性试验:取益气糖康胶囊(批号 20040702)5 份各 5 g,精密称定,制备供试品溶液,进行测定,结果黄芪甲苷的平均质量分数为 0.275 5 mg/g, RSD 为 2.97%。

2.8 加样回收率试验:用加样回收法,称取益气糖康胶囊(批号 20040702)3 份,各约 2.5 g,精密称定,分别加入黄芪甲苷对照品溶液(0.396 0 mg/mL)1.8 mL,制备供试品溶液,分别进行测定,计算加样回收率。结果黄芪甲苷的平均回收率为 96.28%, RSD 为 1.38%。

2.9 测定:取 5 批益气糖康胶囊,依法制备供试品溶液,每批制备两份,测定峰面积,以外标两点法对方程求出黄芪甲苷的质量分数,结果见表 1。通过对 5 批益气糖康胶囊中黄芪甲苷进行检测,建议黄芪甲苷不得少于 0.217 8 mg/g。

3 讨论

表 1 益气糖康胶囊中黄芪甲苷测量结果 ($n=2$)

Table 1 Determination of astragaloside IV in Yiqi Tangkang Capsules ($n=2$)

批号	黄芪甲苷/(mg·g ⁻¹)
20040701	0.273 8
20040702	0.275 2
20040703	0.267 9
20040801	0.246 3
20040802	0.297 7

对益气糖康胶囊中黄芪甲苷的提取方法作了比较:①甲醇超声提取,提取液蒸干后甲醇定容。②甲醇超声提取,提取液蒸干后用水溶解,并用水饱和的正丁醇萃取,氨试液洗正丁醇液,正丁醇液蒸干后甲醇定容。③按《中国药典》2000 年版黄芪项下提取方法操作。④甲醇超声提取,提取液蒸干后用水溶解,并用水饱和的正丁醇萃取,氨试液洗正丁醇液,正丁醇液蒸干,过 D-101 大孔树脂柱,依次用 80 mL 水、40%乙醇 40 mL 和 90%乙醇 50 mL 洗脱,收集 90%乙醇洗脱液,蒸干并用甲醇定容。方法①、②所得供试品溶液基线噪音大,干扰组分多。方法③、④所得供试品溶液基线噪音小,干扰组分少,且方法④比方法③中黄芪甲苷提出率高,故采用④法提取样品。

对黄芪甲苷的测定,大多采用薄层扫描法^[3],但此方法重复性差,干扰因素多。黄芪甲苷仅在近紫外区有弱吸收,蒸发光散射检测器对无紫外吸收或紫外末端吸收物质具有较高的检测灵敏度。故本实验选择了高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定黄芪甲苷,此方法重复性好,准确度高,而且空白无干扰,可有效控制益气糖康胶囊的质量。

References:

- [1] Guo L Y, Fu W H, Zhou L. Determination of astragaloside IV in Qinggan Granules by HPLC-ELSD [J]. *J Beijing Univ Tradit Chin Med* (北京中医药大学学报), 2004, 27 (3): 71-72.
- [2] Zhang Q, Zhou X.M, Liu S. HPLC-ELSD Determination of astragaloside IV in Chinese traditional medicine Naomaikang Injection [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2004, 24 (5): 487-489.
- [3] Lu J, Wang B Q. TLC-scan determination of astragaloside IV [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1992, 14 (6): 34-35.

欢迎订阅《中草药》杂志 2004 年增刊

为了加速中药现代化进程,促进中药产业的技术创新,我部编辑出版了以“新技术在中药现代化中的应用”为主要内容的增刊。该增刊共收载论文 120 篇,总字数约 50 万字,每本定价 60 元,另加 5.00 元邮费。欢迎广大读者直接向《中草药》杂志编辑部订阅,款到寄刊。

编辑部地址:天津市南开区鞍山西道 308 号 邮编:300193 网址:www.tjipr.com

电话:(022) 27474913 23006821 传真:(022) 23006821 E-mail: zcyzzbjb@tjipr.com