

21 7 重现性试验: 取同一批样品 6 份, 按供试品溶液制备方法制备, 依上述测定条件测定, 结果表明, 黄芪皂苷 $\tilde{N} \sim \hat{O}$ 的量 RSD 分别为 31 5%、41 0%、41 4%、41 3%。

21 8 加样回收试验: 精密称取本品 6 份, 分别精密加入对照品溶液 1 mL, 制备供试液, 按上述测定条件测定, 计算回收率, 结果表明, 黄芪皂苷 $\tilde{N} \sim \hat{O}$ 的平均回收率分别为 1021 2%、991 5%、1011 4%、991 7%, RSD 分别为 11 8%、21 1%、11 8%、11 9%。

21 9 样品中皂苷类成分的定量测定: 取不同产地的黄芪、红芪及梭果黄芪药材, 按照上述方法提取和测定黄芪皂苷 $\tilde{N}$ 、黄芪皂苷 $\hat{O}$ 、黄芪皂苷 $\acute{O}$ 、黄芪皂苷 $\grave{O}$ 的量, 测定结果见表 1。

从表 1 结果可知, 蒙古黄芪和膜荚黄芪均含有黄芪皂苷 $\tilde{N} \sim \hat{O}$ 4 种皂苷成分。其中蒙古黄芪的栽培品与野生品之间差异不大, 由于所收集的样品数量较少(均仅为 1 份野生品), 上述结论是否正确还有待进一步验证。梭果黄芪、红芪所含皂苷类成分与蒙古黄芪和膜荚黄芪差异较大。

3 讨论

本研究首次建立了同时测定黄芪药材中 4 种皂苷类成分的方法, 结果表明, 所建的方法简单易行, 方法学验证符合要求, 可作为黄芪药材中皂苷类成分定量的测定方法, 也可作为区别黄芪与红芪、梭果黄芪的依据。本研究还系统考察了不同产地的黄芪、红芪及梭果黄芪皂苷类成分的量情况。

5 中国药典6 收载的黄芪药材的 2 个品种))) 蒙古黄芪和膜荚黄芪, 含有的皂苷类成分及量均接近, 皂苷的量为黄芪皂苷 $\tilde{N} >$ 黄芪皂苷 $\hat{O} >$ 黄芪皂苷

表 1 样品中黄芪皂苷 $\tilde{N} \sim \hat{O}$ 测定结果(n= 2)

Table 1 Determination of astragaloside $\tilde{N} - \hat{O}$ in different samples (n= 2)

样品	产地或来源	黄芪皂苷	黄芪皂苷	黄芪皂苷	黄芪皂苷
		$\tilde{N} / \%$	$\hat{O} / \%$	$\acute{O} / \%$	$\grave{O} / \%$
蒙古黄芪	山西浑源	0.085 1	0.030 2	0.017 1	0.018 7
蒙古黄芪	山西浑源	0.071 2	0.030 1	0.013 0	0.019 0
蒙古黄芪	山西浑源	0.007 7	0.003 5	0.003 5	0.007 9
蒙古黄芪	黑龙江	0.034 2	0.011 0	0.014 4	0.011 7
蒙古黄芪	内蒙古	0.034 9	0.013 5	0.012 0	0.014 9
蒙古黄芪	北京同仁堂供	0.014 7	0.005 2	0.004 4	0.007 2
蒙古黄芪	河北张家口 (野生)	0.013 2	0.005 0	0.002 5	0.011 8
膜荚黄芪	山西大同	0.056 8	0.026 7	0.020 9	0.023 2
膜荚黄芪	黑龙江	0.073 9	0.024 5	0.043 6	0.016 0
梭果黄芪	成都莲花池药市	-	-	0.262 0	0.005 5
梭果黄芪	成都药市	-	-	0.106 4	0.003 4
梭果黄芪	四川康定(野生)	-	-	0.002 9	0.002 8
红芪	成都	-	-	0.003 4	0.008 8
红芪	成都	-	-	0.001 6	-
红芪	广西玉林	-	-	-	0.009 6
红芪	成都	0.002 7	0.001 5	0.018 9	0.013 0

$\hat{O} >$ 黄芪皂苷 $\acute{O}$ 。以原型存在于药材中的黄芪皂苷 $\tilde{N}$ 的量较高, 可作为指标性成分测定黄芪药材中的皂苷类成分。而地方习用药材梭果黄芪与5 中国药典6 品种有较大差别。

参考文献:

[1] 林 琦, 陆 阳, 陈泽乃. 黄芪属植物皂苷类成分研究进展[J]. 国外医药# 植物药分册, 2002, 17(4): 1432146.
[2] 汪 红, 王 强. HPLC2ELSD 法测定黄芪及其注射液黄芪甲苷 $\acute{O}$, $\acute{O}$, $\tilde{N}$ 的含量[J]. 中国药学杂志, 2002, 37(4): 298300.

HPLC2ELSD 法测定不同蜜源蜂王浆中 102HDA

张德东¹, 赵余庆^{2*}

(1. 辽宁中医药大学, 辽宁 沈阳 110032; 2. 沈阳药科大学, 辽宁 沈阳 110016)

摘 要: 目的 通过 HPLC2ELSD 法测定 8 种蜂王浆中 102HDA 的量, 建立不同来源蜂王浆功效成分的检测和品质的评价方法。方法 采用高效液相色谱2 蒸发光散射检测法(HPLC2ELSD), Nucleodur C₁₈ 色谱柱(250 mm@4 6 mm, 5 Lm), 流动相: 甲醇2 水(55 B 45), 体积流量 11 0 mL/ min; 蒸发光散射检测器参数: 漂移管温度 40 e , 气压 31 5 kPa。结果 102HDA 在 1 004~ 01 018 mg(r= 1 999 9) 线性关系良好, 平均加样回收率为 981 9%(RSD= 11 2%, n= 6), 检测样品中 6 种蜂王浆的 102HDA 的量大于 11 4%, 符合国家标准(GB969288)。结论 HPLC2ELSD 法简便、快速、灵敏、准确、重现性好, 可作为蜂王浆的质量控制方法。

* 收稿日期: 2008 0605
作者简介: 张德东(1981) , 辽宁沈阳人, 硕士, 生药学专业, 主要从事天然药物和保健食品开发和应用。
* 通讯作者 赵余庆 Tel: (024)23986522 E2mail: zyq4885@126. com

关键词: 蜂王浆; 102HDA; 蒸发光检测器; 高效液相色谱

中图分类号: R286.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)03-0473-03

蜂王浆, 又名王浆、蜂皇浆、皇浆, 是 5~15 日龄的工蜂采食花粉、花蜜后, 由上颚腺和舌腺分泌的、专供蜜蜂小幼虫和蜂王食用的浆状物, 有着极强的保健功能和奇异的医疗作用^[1]。蜂王浆(干质量)中以蛋白质的量最多, 其主要成分是 102 羟基-222 癸烯酸(简称 102HDA), 该成分具有抗疲劳、抗衰老、耐缺氧、调节免疫、改善记忆、抗辐射等功效。大量研究表明, 102HDA 具有重要的生理功能, 而且在自然界中为蜂王浆所特有, 一直以来被作为衡量蜂王浆质量及辨别其真伪的重要指标^[2]。国家标准规定蜂王浆中 102HDA 的量应大于 11.4%。文献报道 102HDA 定量测定方法有紫外分光光度法^[3]、气相色谱法^[4]、高效液相色谱-紫外检测器法^[2]及胶束电动毛细管色谱法^[5]等。该试验采用高效液相色谱-蒸发光检测器(HPLC-ELSD)法测定了蜂王浆中 102HDA 的量, 样品前处理简单, 方法定量准确, 回收率高, 旨在为蜂王浆的质量控制提供科学的检测手段。

1 仪器与试剂

1.1 仪器: 高效液相色谱仪: K-501 型泵; UM-3000 蒸发光检测器(ELSD); 柱温箱; Nucleodur C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm, 带保护柱), Trisep-2003 色谱工作站; CP225D 分析天平(德国 Sartorius 公司)。

1.2 试剂: 益母草蜂王浆、五味子蜂王浆、山荆芥蜂王浆、槐花蜂王浆、油菜蜂王浆(沈阳王氏天兴蜂蜜有限公司), 椴树蜂王浆、葵花浆(辽宁省辽北养蜂场), 百花浆(辽宁兴城蜜蜂园总厂), 102HDA 对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 110812200405, 供定量测定用)。

甲醇, 色谱纯(上海陆忠试剂厂); 水为高纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 流动相为甲醇-水(55:45)。体积流量 1.0 mL/min, 柱温 25℃, 外标法定量分析, 102HDA 分离度大于 1.5。色谱图见图 1。

2.2 对照品溶液制备: 精确称取 102HDA 对照品 51.0 mg, 置于 5 mL 量瓶中, 用甲醇溶解, 摇匀, 配制成含 102HDA 11.0 mg/mL 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液制备: 准确称取蜂王浆 11.0 g, 置于 25 mL 容量瓶中, 加入适量甲醇超声提取 30 min,

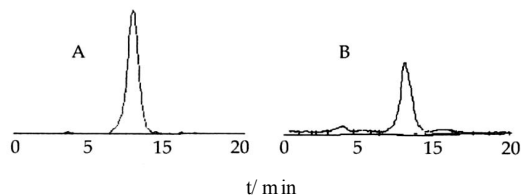


图 1 102HDA 对照品(A)与样品(B)HPLC-ELSD 谱图

Fig. 1 HPLC-ELSD Chromatogram of 102HDA reference substances (A) and sample (B)

用甲醇定容, 摇匀后经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 得供试品溶液。

2.4 线性关系考察: 精确吸取 102HDA 对照品溶液 4、8、10、16、18 μL 进样, 平行 3 次, 测定 102HDA 峰面积。用峰面积的平均值与进样量进行线性拟合, 得 102HDA 线性回归方程为 $Y = 21.74 \times 10^7 X - 11.28 \times 10^4$ 。表明当 102HDA 进样量在 0.004~0.018 mg 时, 线性关系良好。

2.5 精密度试验: 精确吸取 102HDA 对照品溶液 20 μL 进样, 重复 5 次, 测得 102HDA 峰面积 RSD 为 0.7% (n=5), 说明进样方法和仪器精密度良好。

2.6 重现性试验: 取同一批蜂王浆样品 5 份, 按 2.1.3 方法制备样品溶液, 吸取 20 μL 进样分析, 测得 102HDA 峰面积, 计算其质量分数的 RSD 为 0.9% (n=5), 说明方法重现性好。

2.7 稳定性试验: 精确吸取蜂王浆样品 20 μL 进样分析, 然后分别于 2、6、10、12、24 h 时重复 1 次, 测得 102HDA 峰面积的 RSD 为 1.4%, 表明样品溶液在 24 h 内稳定。

2.8 加样回收率试验: 准确称取已知 102HDA 量的同一份蜂王浆样品 6 份, 分别加入适量 102HDA 对照品, 制备样品溶液, 102HDA 平均加样回收率为 98.9%, RSD 为 1.2% (n=6)。

2.9 样品测定: 取不同蜂场采集的蜂王浆样品, 按 2.1.3 方法配制样品溶液, 精确吸取 20 μL 进样分析, 平行 3 次, 测定样品中 102HDA 峰面积, 外标法计算质量分数。由表 1 可知, 不同花源蜂王浆中 102HDA 的量差异较大, 其中以椴树蜜源辽宁辽北蜂场的蜂王浆质量佳, 而以五味子为蜜源的蜂王浆中 102HDA 最低。

3 讨论

3.1 样品的提取与处理: 不同样品提取与预处理样

表 1 样品中 102HDA 的测定结果(n= 3)
Table 1 Determination of 102HDA content in sample (n= 3)

样品	采集地	蜜源	102HDA/ %	RSD/ %
1	沈阳王氏天兴蜂蜜有限公司	益母草	1. 476 5	0. 7
2	沈阳王氏天兴蜂蜜有限公司	五味子	0. 997 2	1. 3
3	沈阳王氏天兴蜂蜜有限公司	山荆芥	1. 673 7	1. 0
4	沈阳王氏天兴蜂蜜有限公司	槐花	1. 146 3	0. 2
5	沈阳王氏天兴蜂蜜有限公司	油菜	1. 874 8	1. 4
6	辽宁省蜜蜂原种场	杂花	1. 580 6	1. 8
7	辽宁辽北养蜂场	椴树	1. 980 4	0. 8
8	辽宁辽北养蜂场	葵花	1. 746 3	1. 2

品加入适量甲醇溶液, 分别超声提取 10、30、50、70 min, 预处理后测定提取液中 102HDA 的量, 30 min 后 102HDA 量基本无变化, 表明已提取完全。102HDA 平均加样回收率为 98. 9%, RSD 为 1. 2% (n= 6)。取样经上清液 0. 4 Lm 滤膜滤过后可直接进样分析, 样品预处理方法简单, 多次重复进样, 稳

定且重现性良好, 对色谱柱未产生污染。
3. 2 测定方法的建立: 蒸发光检测器已被 2005 版 5 中国药典 6 收载, 首次采用 HPLC-ELSD 法, 以外标法测定蜂王浆中 102HDA 的量, 方法简便、快速、准确度高、精密度高, 可用于蜂王浆及其产品的质量控制和评价。

参考文献:

[1] 苏松坤, 沈飞英, 戎映君, 等. 蜂王浆中活性组分的研究[J]. 中国养蜂, 2005, 12(3): 426.
[2] 胡福良, 李英华, 朱威. 影响蜂王浆质量的因素[J]. 蜜蜂杂志, 2004(6): 28-29.
[3] 韩士田, 张仲, 吴英绵. 紫外分光光度法测定蜂王浆制剂中 10-羟基-2-癸烯酸的含量[J]. 邯郸师专学报, 1999, 9(3): 42-45.
[4] 林国斌, 陈小萍, 倪蕾, 等. 气相色谱法测定蜂王浆及制品中的 10-羟基-2-癸烯酸[J]. 实用预防医学, 2005, 12(1): 172.
[5] 孙保国, 姚昌莉, 侯鹏亮. 胶束电动毛细管色谱法测定蜂王浆及制品中的 10-羟基-2-癸烯酸[J]. 药物分析杂志, 1998, 18(5): 329-331.

全国医院药学(药学服务与实践)学术会议征文通知

由中国药学会医院药学专业委员会主办、5 中国医院药学杂志 6 承办的/ 全国医院药学(药学服务与实践)学术会议 0 将于 2009 年第 3 季度在内蒙古召开。本次会议以药学服务与实践为主题, 深入探讨药学服务的范筹、流程及其创新实践。交流药学服务在合理用药中的任务与表现, 促进安全、合理用药, 更好地服务于患者, 满足患者对医疗的需求, 推动医院药学事业的发展。会议还将邀请全国知名药学专家作专题报告, 与代表进行学术交流和研讨。现向全国医院药学工作者、医药研究人员、医药单位管理层人员征文。欢迎踊跃投稿。

1 征文内容

(1) 医院药学工作落实医疗卫生体制改革的思路与实践; (2) 药师在临床药物治疗中的药学服务及管理模式的探索; (3) 药学服务的流程及服务的创新; (4) 药学服务中药品调剂自动化管理及经验; (5) 药学服务中的信息化管理的建设; (6) 药品管理及保障药品安全性中的新观念; (7) 临床合理用药、新药的临床评价和临床观察、药物的配伍、药物的不良反应与分析等中的新经验; (8) 国外医院药学发展动态, 临床药师的培养和继续教育, 如何开展适合我国的临床药学, 医院药学的学科建设和管理经验。

2 征文要求

所有征文均属于未公开发表, 未一稿两投, 每篇文章均需附 600~ 800 字的摘要。论文书写格式按 5 中国医院药学杂志 6 2009 第 1 期稿约, 请用电子邮件发送。请附作者详细通讯地址、电话和电子信箱。

3 说明

被大会录取的论文将编入论文集(光盘), 优秀论文可在 5 中国医院药学杂志 6 发表。会议将评出一、二、三等优秀论文并进行奖励。参会代表将被授予中国药学会 0 类药学继续教育学分并获论文证书。

会议地点和时间: 内蒙古, 具体时间和地点将另行通知。

征文截止时间: 2009 年 6 月 30 日。来稿请 E-mail: 82836596@163.com, 请在电子邮件上注明/ 会议征文 0 字样, 以免与其他稿件混淆。

地址: 武汉市胜利街 155 号 5 中国医院药学杂志 6 编辑部 邮编: 430014 电话/ 传真: (027)82836596