

双波长薄层扫描法测定贞芪增免胶囊中黄芪甲苷含量

邱建国, 盛 杰, 贾正平*, 孙爱军, 吴兰兰
(兰州军区兰州总医院药材科, 甘肃 兰州 730050)

[摘要] 目的: 建立贞芪增免胶囊中黄芪甲苷含量测定的方法。方法: 采用双波长薄层扫描法测定本品中黄芪甲苷的含量。结果: 在 TLC 色谱中黄芪甲苷有特征斑点; 平均回收率为 97%, RSD 为 1.2% ($n=6$)。结论: 测定方法专属性强, 方法简便, 可用于贞芪增免胶囊的质量控制。

[关键词] 贞芪增免胶囊; 黄芪甲苷; 双波长薄层扫描法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)02-0008-02

[收稿日期] 2008-03-17

[通讯作者] * 贾正平, Tel: (0931) 8994652; E-mail: empriqqq@public.LZ.gs.cn。

贞芪增免胶囊由黄芪、女贞子等 6 味中药组成, 具有扶正固本, 补气滋阴之功效, 用于久病虚损、气阴不足之功效。本实验采用双波长薄层扫描法测定黄芪甲苷含量, 为控制该产品的质量提供了依据。

1 仪器与试剂

双波长薄层扫描仪 CS-930(日本岛津公司); 黄芪甲苷(0781-200311 中国药品生物制品检定所); 硅胶 G 板(20060206 青岛海洋化工有限公司); 试剂均为分析纯; 贞芪增免胶囊(20060318、20060520、20060523 兰州军区兰州总医院, 兰制字(2006F00048))。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 波长: $\lambda_s = 530 \text{ nm}$, $\lambda_R = 700 \text{ nm}$ 。薄层板: 硅胶 G 板。展开剂: 氯仿-甲醇-水(65: 35: 10) 10 °C 以下放置的下层溶液。显色剂: 10% 硫酸乙醇溶液。显色温度: 100 °C。在对照品相应的位置, 供试品有相同的斑点。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取黄芪甲苷对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液, 作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取本品研匀的粉末 5 g, 精密称定, 加甲醇 40 mL, 超声提取 30 min, 滤过, 用甲醇 25 mL 分次洗涤残渣及滤纸, 合并甲醇提取液, 水浴蒸干, 残渣用 1% NaOH 溶液 30 mL 溶解并移至分液漏斗中, 加乙醚脱脂 3 次, 碱液层加水饱和正丁醇萃取 3 次, 每次 20 mL, 正丁醇层用 1% NaOH 溶液洗涤 2 次, 每次 15 mL, 正丁醇层水浴蒸干, 残渣用甲醇溶解并定容至 5 mL, 滤过, 滤液作为供试品溶液。

2.4 线性关系考察 精密吸取 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的黄芪甲苷对照品溶液 1, 2, 3, 4, 5 μL , 分别点于薄层板上, 按 2.5 项下进行测定, 以吸收度积分值(A)对浓度(C)进行线性回归。黄芪甲苷回归方程为 $A = -1446.84 + 23980.78C$, $r = 0.9977$, 在 1.00 ~ 5.00 μg 范围内有良好的线性关系。

2.5 薄层色谱测定方法^[1] 精密吸取供试品溶液 2 μL 与 6 μL 对照品溶液 2 μL 与 4 μL , 分别交叉点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-甲醇-水(65: 35: 10) 10 °C 以下放置的下层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 在 100 °C 加热至斑点显色清晰, 取出, 在薄层板上覆盖同样大小的玻璃板, 周围用胶布固定, 照薄层色谱法^[2] 进行扫描, 测量供试品吸收度积分值与对照品吸收度积分值, 计算, 即得。

2.6 空白干扰实验 按处方配制除黄芪的空白供试品, 按 2.5 项下测定。结果表明, 在对照品相应的位置, 供试品有相同的斑点, 而阴性对照品无任何斑点, 所以无干扰吸收。

2.7 精密度试验 精密吸取对照品溶液 4 μL , 重复点样 6 次, 按 2.5 项下测定。结果 $\text{RSD} = 1.72\%$ 。

2.8 重复性试验 取同一供试品溶液 6 份, 按 2.3 项目下制备样品, 按 2.5 项下扫描、测定, 结果 $\text{RSD} = 2.69\%$ 。

2.9 稳定性试验 对供试品溶液薄层斑点面积积分值考察 3 h, 每隔 30 min 测定 1 次。在 3 h 内测定积分值基本保持不变, 表明斑点较稳定。

2.10 加样回收率测定 精密称取 2.5 g 研匀的已知浓度的供试品 6 份, 分别加入黄芪甲苷对照品 2.58 mg($0.516 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1} \times 5 \text{ mL}$) 3 份, 5.16 mg($0.516 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1} \times 10 \text{ mL}$) 3 份, 按 2.3 项目下制备样品, 按 2.5 项下扫描、测定, 结果见表 1。

表 1 黄芪甲苷回收率试验结果

样号	称样量(g)	供试品中黄芪甲苷含量(mg)	黄芪甲苷加入量(mg)	黄芪甲苷测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	2.4968	1.2134	2.58	3.7034	96.5		
2	2.5003	1.2151	2.58	5.0103	97.3		
3	2.5122	1.2209	2.58	3.7809	99.2		
4	2.4999	1.2150	5.16	6.1950	96.5	97.0	1.20
5	2.4853	1.2079	5.16	6.1579	95.9		
6	2.5067	1.2183	5.16	6.2083	96.7		

2.11 供试品含量测定 按 2.3 项下制备供试品溶液 3 批, 供试品含量测定结果: 0.243 mg/粒、0.204 mg/粒、0.195 mg/粒。

3 讨论

黄芪是本方的君药, 所以对其进行含量测定。因其没有特征光谱, 只是在 205 nm 边缘光谱有吸收, 所以用 HPLC 法测定, 经过实验, 用此方法对照品、供试品、阴性对照品在同一保留时间均有同等吸收值的两个小峰; 在没有配置 HPLC-ELSD 时, 采用双波长薄层扫描法测定黄芪甲苷含量较理想。文献报道, 用双波长薄层扫描仪测定黄芪甲苷用氨水处理样品, 再用萃取法或聚酰胺柱洗脱分离法, 本实验经过摸索、实践, 用 1% NaOH 处理样品, 所需溶液较氨水少, 操作洗涤次数少, 更易除去杂质, 省时、省力、节约试剂。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2000 版[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2000: 249.
- [2] 苗明三, 李振国. 现代实用中药质量控制技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 1013, 890, 900.