

RP-HPLC 测定助长 1 号片中黄芪甲苷的含量

王秀莲¹, 徐尚统¹, 徐布军¹, 孙孟炜², 张洪超³

(1 上海香山中医医院, 上海 200020; 2 上海运动健康研究中心, 上海 201100;

3 上海静安制药有限公司, 上海 201204)

摘要: 采用反相高效液相色谱法, 测定助长 1 号片中黄芪甲苷的含量, 用 Zorbaxsb-C₁₈ (4.6mm × 15cm 5μm) 色谱柱, 以乙腈: 水为梯度洗脱流动相, 检测波长为 203nm, 流速为 1.0ml/min。结果: 黄芪甲苷在 0.125mg/ml~ 1.0mg/ml 呈良好的线性关系, 测和回归方程: $y = 9.0409x + 8882.12$, ($r = 0.9999$), 平均回收率为 97.48%, RSD 为 0.5%, 本法简便, 准确, 重现性好, 可用于黄芪的质量控制, 适合于医院、药厂的常规质量控制。

关键词: 高效液相色谱法; 黄芪甲苷; 含量测定

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2004)01-0014-02

助长 1 号片为我院多年临床使用的有效验方, 其处方由黄芪、甘草、生牡蛎等药物组成, 临床主要用于治疗小儿生长发育迟缓等疾病。药理研究表明^[1] 该药具有增长小儿发育, 增长功能的作用, 为了保证临床疗效和用药的安全, 我们对该制剂中主要成分黄芪甲苷, 建立 HPLC 液相色谱含量测定方法, 2000 年版中国药典采用薄层色谱扫描法对黄芪甲苷进行含量测定^[2], 该法在复方制剂中, 常由于其他成分的干扰, 使分离度下降, 而难以推广应用, HPLC 法测定黄芪甲苷含量多有报道^[3-4], 本文采用 RP-HPLC 测定助长 1 号片中黄芪甲苷的含量, 方法简便、准确, 重现性好, 为临床用药提供了安全、客观的定量评价。

1 仪器与试剂

仪器 美国惠普 1100 高效液相色谱仪。

试剂 黄芪甲苷对照品(中国药品生物制品检定所批号 2001008)、助长 1 号片(上海香山中医医院, 批号分别为 20021101、20021102、20021103)、乙腈(色谱纯)、其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: 美国 Zorbax Sb-C₁₈ (4.6mm × 15cm 5μm) 柱温: 35℃; 二极管阵列检测器, 波长 203nm 流动相: 乙腈: 水梯度洗脱见表 1, 流速: 1.0ml·min⁻¹ 黄芪甲苷标准品、样品及样品空白色谱图见附图。

表 1 梯度洗脱

时间(min)	0	5	10	15	22	25	26
乙腈(%)	30	35	40	40	45	30	30
水(%)	70	65	60	60	55	70	70

2.2 标准曲线的制备 精密称取黄芪甲苷对照品 5.0mg, 置于 10ml 量瓶中, 甲醇溶解后稀释刻度, 摇匀使成浓度 0.5mg/ml。作为贮备液。精密吸取此溶液 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0ml 分别置于具塞试管中, 45℃N₂ 吹干, 各精密加甲醇 1ml, 使成浓度为 0.125、0.25、0.5、0.75、1.0mg/ml。以黄芪甲苷浓度对峰面积作图, 绘制成标准曲线。回归方程: $y = 9.0409x + 8882.12$, $r = 0.9999$, 结果表明在 0.125~ 1.0mg·ml⁻¹ 浓度范围呈良好的线性关系。

2.3 精密度和稳定性试验 对同一浓度对照品溶液连续注样 6 次, 以黄芪甲苷峰面积计算, 精密度 RSD = 0.5%, 每隔 1 小时注样 1 次, 结果样品在 6h 内稳定 RSD = 0.48%。

2.4 回收率试验 称取按工艺制备去黄芪的空白样品 10 份, 每份 0.1g。分别精密加入浓度为 0.24mg/ml, 按样品测定项下进行操作, 在上述色谱条件下进行测定, 测得平均回收率为 97.48% RSD = 0.5%, 实验结果见表 2。

表 2 回收率试验

样品编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
加入量(mg)	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24
测得量(mg)	0.231	0.236	0.235	0.237	0.229	0.238	0.236	0.232	0.230	0.234
回收率(%)	96.34	98.33	97.92	98.77	95.6	99.3	98.32	96.7	95.88	97.6

平均回收率(%) : 97.476

$RSD(\%)$: 0.591

2.5 重复性考察 对同一供试品连续 5 次注样, 以黄芪甲苷峰面积计算, 峰面积为 281.35、267.13、268.11、270.42、273.72 $RSD = 2.1\%$ 。

2.6 样品测定 取助长 1 号 10 片, 研成粉末, 取 1g 精密称定, 置于索氏抽提器中, 精密加甲醇 60ml, 水浴回流 8h, 回收甲醇至干, 加水 5ml, 溶解残渣, 用正丁醇提取 3 次, 每次 10ml, 合并正丁醇液, 用氨试液洗涤 3 次, 每次 30ml, 回收正丁醇至干, 精密加入甲醇 1ml 定容, 摇匀。用 0.25 μ m 滤膜滤过, 注样分析。测定结果见表 3。

表 3 助长 1 号片中黄芪甲苷的含量 ($n = 2$)

批号	含量 (%)	$RSD(\%)$
20021101	0.046	0.26
20021102	0.045	0.73
20021103	0.042	0.86

3 讨论

3.1 波长的选择 有关文献报道^[3]: 黄芪甲苷最大

吸收波长为 201nm, 但本实验利用二极管阵列检测器, 从 201nm~ 210nm 扫描, 得出最大吸收波长为 203nm, 故本实验选用 203nm 为检测波长。

3.2 关于样品处理 由于黄芪甲苷含量低, 又处于末端吸收, 组方中杂质成分较多, 故采用氨试液洗涤, 效果较理想, 实验证明通过洗涤能起到较好的分离效果。

参考文献:

- [1] 钱尚统, 王凡, 陈敏先, 等. 中西医结合治疗矮小的临床观察[J]. 中华中西医结合杂志, 2001(6): 6.
- [2] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典. (一部)[S]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 249.
- [3] 顾利清, 李新. HPLC 液相色谱法测定复方黄芪口服液中的黄芪甲苷的含量[J]. 苏州医学院学报, 2001(4): 21.
- [4] 路玫, 蒙太平. 反相高效液相色谱法测定黄芪注射液中的黄芪甲苷含量[J]. 中国医院药学杂志, 2001, 21(4): 212.