

HPLC-ELSD 法测定养阴降糖片中黄芪甲苷含量

孙志云

(焦煤[集团]中央医院, 河南 焦作 454150)

摘要: 目的: 建立养阴降糖片中黄芪甲苷含量的测定方法。方法: 采用 HPLC-ELSD 法测定。结果: 黄芪甲苷在 2.012~12.072 μ g, 与峰面积积分值呈良好线性($r = 0.9996$, $n = 5$)。平均回收率为 99.5%。结论: 为控制养阴降糖片中黄芪甲苷的含量提供了方法。

关键词: 养阴降糖片; 黄芪; 黄芪甲苷; HPLC-ELSD 法

中图分类号: R284.1 **文献标识码:** B **文章编号:** 1005-9903(2003)06-0008-02

养阴降糖片收载于卫生部药品标准中药成方制剂第五册, 由黄芪、党参、葛根、枸杞子等组成。功能养阴益气, 清热活血, 用于糖尿病。黄芪甲苷为该方君药黄芪的主要成分。其含量测定已报道有薄层扫

描法^[1], 比色法^[2], HPLC 法^[3]。由于复方中药制剂组分复杂, 且用 HPLC 法低波长紫外检测时, 溶剂背景难以消除。本文试用 HPLC-ELSD 法对该方君药有效成分黄芪甲苷进行含量测定, 获得满意效果。

1 仪器与试药

美国 Agilent 1100 型高效液相色谱仪, G1311A

收稿日期: 2003-02-20

色谱泵, Alltech-ELSD2000 检测器, Agilent 化学工作站。

养阴降糖片(河南省宛西制药股份有限公司生产), 黄芪甲苷对照品(中国药品生物制品检定所), 乙腈为色谱纯, 水为高纯水, 使用前超声处理。其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 HYPERSIL ODS 柱(4mm × 250mm, 5μm), 流动相: 乙腈-水(1:2), 室温, 流速 1.0 ml/min。

2.2 供试品溶液制备 取本品 20 片, 除去糖衣, 研细, 精密称定 5g, 用滤纸包裹, 置索氏提取器中, 加甲醇 50ml, 回流 5h, 提取液蒸干, 残渣加水 10ml 微热使溶解, 加水饱和正丁醇振摇提取 3 次, 每次 20ml, 合并正丁醇液, 用氨试液洗 2 次, 每次 20ml, 弃去氨液, 正丁醇液蒸干, 用甲醇溶解并定容至 5ml 量瓶中, 滤过, 作为供试品溶液, 色谱图见图 1。

2.3 对照品溶液制备 精密称定黄芪甲苷对照品 5.03mg, 加甲醇溶解并定容至 10ml 容量瓶中即得。色谱图见图 2。

2.4 空白试验 取自制不含黄芪的空白制剂样品, 同供试品溶液制备方法制备, 并依法测定, 结果在 HPLC 图谱黄芪甲苷相应位置上没有吸收, 表明其他组方对测定无干扰。色谱图见图 3。

2.5 线性关系考察 精密吸取上述对照品溶液 4, 8, 12, 16, 20, 24μl 进样, 按上述色谱条件测定, 以进样量(μg)的常用对数值为横坐标, 峰面积分值得常用对数为纵坐标, 进行线性回归, 得回归方程 $Y = 1.6238X + 9.947$, $r = 0.9996$, 进样量在 2.012~12.072μg, 呈良好的线性关系。

2.6 精密度试验 吸取上述对照品溶液 12μl, 重复进样 6 次, 结果 RSD 为 1.23%, 证明精密度良好。

2.7 稳定性试验 精密吸取对照品溶液 12μl, 分别于 0, 1, 2, 4, 6, 8, 12h 内依法测定, 黄芪甲苷峰面积分值得, RSD 为 1.32%, 表明黄芪甲苷在 12h 稳定。

2.8 回收率试验 精密称定已知含量的样品 2.5g, 精密加入黄芪甲苷对照品溶液 1.0ml(0.503mg/ml), 按供试品制备方法制备样品, 测定。结果见表 1。

2.9 重现性试验 取同一批样品 6 份, 分别按样品测试条件测定, 结果 RSD 为 2.08%, 表明重现性良好。

2.10 样品测定 分别取对照品溶液 8, 16μl, 供试品溶液 12μl, 进行测定, 以外标两点法求出黄芪甲苷含量, 结果见表 2。

表 1 回收率测定结果

样品含量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1.0135	1.5054	97.8		
1.0678	1.5814	102.1		
1.1396	1.6368	98.8	99.5	2.14
1.1047	1.5949	97.6		
1.0953	1.6038	101.1		

注: 加入量为 0.503mg

表 2 样品中黄芪甲苷含量

批号	20020601	20020602	20020603
黄芪甲苷含量 \bar{x} (mg/片)	0.34	0.36	0.32
RSD (%)	1.9	2.2	1.6

3 讨论

3.1 本人在供试品溶液制备时, 曾用了三种不同提取方法, 索氏提取器提取, 直接加热回流提取, 超声波提取, 结果表明, 后两种提取方法提取黄芪甲苷不完全, 测得含量低, 故本文采用索氏提取器提取。

3.2 曾试验了甲醇-水(40:60), 四氢呋喃-水(25:75)及乙腈-水(1:2)等不同流动相, 考察黄芪中各成分的分离情况及检测灵敏度, 结果表明, 采用乙腈-水(1:2)为流动相时, 分离情况良好。

3.3 本实验采用高效液相色谱-蒸发光散射检测, 不受流动相溶剂的干扰, 对黄芪甲苷类等具有紫外末端吸收的物质, 检测效果良好, 可作为该制剂的质量控制方法。

参考文献:

- [1] 鲁静, 王宝葵. 黄芪甲苷的薄层扫描法测定[J]. 中成药, 1992, 14(6): 34.
- [2] 陆一心. 黄芪甲苷定量方法的研究[J]. 中成药, 1996, 18(2): 38.
- [3] 付铁军, 李伯刚, 及元乔, 等. 高效液相色谱法测定黄芪注射液黄芪甲苷的含量[J]. 天然产物的研究与开发, 1997, 9(4): 53.
- [4] 冯埃生, 邹汉法, 汪海林, 等. 高效液相色谱-蒸发光散射检测器检测性能基本因素的考察[J]. 药物分析杂志, 1996, 16(6): 414.

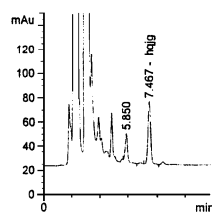


图 1 供试品色谱图

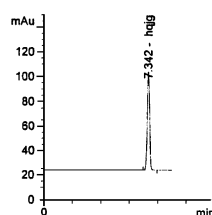


图 2 对照品色谱图

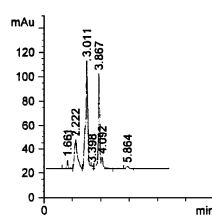


图 3 空白样品
色谱图