

薄层扫描法测定补血胶囊中黄芪甲苷含量

王志超¹, 段晓颖¹, 赵青²

(1 河南中医学院第一附属医院, 郑州 450000; 2 郑州市中心医院, 郑州 450007)

摘要:目的: 建立补血胶囊中黄芪甲苷含量测定方法。方法: 以氯仿-甲醇-水(13: 6: 2)为展开剂, 以 10% 硫酸乙醇溶液为显色剂, 采用双波长反射法锯齿扫描, $\lambda = 530\text{nm}$, $\lambda_r = 670\text{nm}$ 。结果: 加样回收率平均为 97.8%, $RSD = 1.8\%$ ($n = 6$), 标准曲线 $r = 0.997$, 稳定性 $RSD = 2.5\%$ ($n = 4$), 精密性: 同板 $RSD = 1.4\%$ ($n = 5$), 异板 $RSD = 2.6\%$ ($n = 3$), 重现性 $RSD = 3.0\%$ ($n = 5$)。结论: 方法简便, 稳定, 可靠, 可作为该制剂的质量控制方法。

关键词: 薄层扫描; 补血胶囊; 黄芪甲苷

中图分类号: R284.2 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2002)06-0007-02

Determination of Astragaloside in Buxue Capsual by TLC-scanning Method

WANG Zhi-chao¹, DUAN Xiao-ying¹, ZHAO Qing²

(1 The First Affiliated Hospital, Henan College of TCM, Zhengzhou 450000;

2 Zhengzhou Central Hospital, Zhengzhou 450007, China)

Abstract: Objective: To establish quantitative analysis of Astragaloside in Buxue capsual. Methods: The mobile phase is chloroform-methanol-water(13: 6: 2), the color reagent is ethanol containing 10% sulfuric acid. TLC-scanning conditions: $\lambda = 530\text{nm}$ and $\lambda_r = 670\text{nm}$. Results: The average recovery was 97.8% with good linear relationship($r = 0.997$) and reproducibility. Conclusion: the method is stable and reliable which can be used for the quality control of Buxue capsual.

Key words: TLC-scanning Method; Buxue capsual; Astragaloside

补血胶囊由黄芪、当归等五味中药组成, 具有补血生血之功效, 临床上常用于劳倦内伤所致气弱血虚, 阳浮外越。方中黄芪为君药, 大补脾肺之气, 以裕生血之源。其主要成分为黄芪甲苷。本文采用双波长薄层扫描法测定补血胶囊中黄芪甲苷含量, 方法简便可靠, 可以作为该制剂的质量控制方法。

1 仪器与试剂

日本岛津 CS-930 薄层扫描仪; PBQ-I 型薄层自动铺板器(重庆南岸新力实验电器厂)。硅胶 G(青岛海洋化工厂), 其它试剂均为 AR 级。黄芪甲苷对照品(中国药品生物制品检定所)。补血胶囊(河南中医学院第一附属医院制剂室提供)。

2 实验条件

2.1 供试品溶液的制备^[1] 取补血胶囊 10 粒, 倾出内容物, 混匀, 取 2g, 于滤纸筒中精密称量。置索氏提取器中, 加入甲醇 50ml, 回流 4h。提取液回收甲醇并浓缩至干, 残渣加水 20ml, 微热使溶解, 用水饱和的正丁醇振摇萃取四次, 每次 20ml, 合并萃取液。

用氨试液提取 2 次, 每次 50ml, 弃去氨液, 正丁醇液挥干, 残渣以水 2~3ml 使溶解, 放冷。通过 D₁₀₁ 大孔吸附树脂柱(内径 1.1cm, 长 12cm), 以水 50ml 洗脱, 弃去水液。再用 40% 乙醇 30ml 洗脱, 弃去 40% 乙醇洗脱液, 继用 70% 乙醇 50ml 洗脱, 收集洗脱液, 挥干, 用少量甲醇溶解并转移至 2ml 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取黄芪甲苷对照品 10.5mg, 置于 10ml 容量瓶中, 加入甲醇溶解并稀释至刻度, 即为 1.05mg/ml 的黄芪甲苷对照品溶液。

2.3 薄层层析与测定条件 硅胶 G 薄层板, 展开剂: 氯仿-甲醇-水(13: 6: 2) 10℃以下放置过夜的下层溶液, 展距: 8cm, 10% 硫酸乙醇 105℃显色 5min。采用双波长反射法锯齿扫描^[2], 对照品斑点在可见光区(370~700nm) 光谱扫描, 其最大吸收波长为 530nm (λ), 最小波长为 670nm (λ_r), 狭缝 1.2 × 1.2mm, 线性化参数 $S_x = 3.0$, 最小峰面积 3000。

3 方法与结果

3.1 干扰试验 取缺黄芪的阴性对照品约 2g, 精密称定, 按照上述方法制备阴性对照品溶液。精密吸

取供试品溶液, 阴性对照品溶液, 黄芪甲苷对照品溶液各 5 μ l, 依法点样, 展开, 显色, 上面覆盖一洁净玻璃板, 四周以胶带密封, 置薄层扫描仪上扫描, 结果表明阴性对照品对试验无干扰。

3.2 线性化范围试验 精密吸取黄芪甲苷对照品溶液(1.05mg/ml) 1 2 3 4 5 μ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 按上述条件展开扫描, 以峰面积积分 A 为纵坐标, 点样量 C(μ g) 为横坐标, 进行回归分析, 得回归方程 $A = 4727.21 + 6949.80C$, $r = 0.997$ 。黄芪甲苷在 1.05~ 5.25 μ g 范围内线性关系良好。

3.3 精密度试验 在同一薄层板上点五个相同量的供试品溶液斑点, 按上述方法展开, 扫描测定黄芪甲苷斑点的峰面积, 结果 $RSD = 1.4\%$ 。在五个薄层板上分别点相同量的供试品溶液斑点, 按上述方法展开, 扫描测定, 结果 $RSD = 2.6\%$ 。

3.4 稳定性试验 将供试品溶液点于硅胶 G 薄层板上, 按上述方法展开, 显色, 每隔 30min 扫描一次, 共测定 4 次, 结果峰面积的 $RSD = 2.5\%$, 表明在 2h 内斑点稳定性良好。

3.5 加样回收率试验 取同一批已知含量的样品共 6 份, 精密加入黄芪甲苷对照品, 按上述方法测定, 结果见表 1。

表 1 回收率试验

序号	原有量 (mg)	添加量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.491	0.490	0.961	95.9		
2	0.493	0.490	0.992	101.8		
3	0.475	0.620	1.082	97.9	97.8	2.4
4	0.482	0.64	1.103	97.0		
5	0.485	0.830	1.274	95.1		
6	0.490	0.830	1.291	96.5		

3.6 重现性试验 取同一批号样品, 按上述方法制备供试品溶液, 进行含量测定, 同样条件重复实验五次, 结果 $RSD = 3.0\%$, 表明重现性良好。

3.7 样品测定 按上述方法测定三批样品, 结果见表 2。

表 2 不同批号样品黄芪甲苷含量

批号	平均(n=3)(%)	RSD(%)
000214	0.247	2.6
000302	0.272	2.4
000328	0.233	3.5

4 讨论

4.1 黄芪为方中君药, 黄芪药材质量的好坏及投料量的多少对制剂发挥疗效有显著影响, 而其主要成分为黄芪甲苷, 故本文以此成分为指标, 采用薄层扫描法对制剂质量进行控制。

4.2 供试品的制备我们曾采用索氏提取法, 热回流法, 超声法提取黄芪甲苷, 对此研究结果表明索氏提取法对黄芪甲苷提取完全, 因此采用此法制备供试品溶液。

黄芪甲苷的测定方法还有高效液相色谱法^[3], 但薄层扫描法具有灵敏, 简便, 准确及测定成本低等优点, 因此具有实用性。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国药典, 一部[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 249.
- [2] 章育中, 郭希圣. 薄层层析法和薄层扫描法[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1990. 339-358.
- [3] 陈发奎. 常用中草药有效成分含量测定[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997. 621-622.