

养血固冲合剂中黄芪甲苷的含量测定

朱明恒(南京医科大学附属苏州医院药剂科,江苏苏州 215002)

【摘要】 目的 建立养血固冲合剂中黄芪甲苷含量测定的方法。**方法** 应用高效液相色谱-蒸发光散射检测法进行检测,色谱柱为 DiamonsilC18(250 mm×4.6 mm,5 μm),流动相为乙腈-水(32:68),流速 1 mL/min,柱温 25 ℃,漂移管温度 60 ℃。**结果** 黄芪甲苷进样浓度在 0.012 52~0.200 32 mg/mL 范围内与峰面积呈良好线性关系,相关系数为 0.996 6,平均加样回收率为 92.56%,RSD 为 1.13%($n=6$)。**结论** 本方法简便、准确、重现性好,可用于养血固冲合剂的质量控制。

【关键词】 养血固冲合剂; 高效液相色谱-蒸发光散射检测法; 黄芪甲苷; 含量测定

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.24.012 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)24-3275-02

Detecting the content of astragaloside IV in Yangxueguchong mixture ZHU Ming-heng (Department of Pharmacy, Suzhou Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Suzhou, Jiangsu 215002, China)

【Abstract】 Objective To establish a method for determinating the content of astragaloside IV in Yangxueguchong mixture. **Methods** HPLC-ELSD was used, the separation was carried out on DiamonsilC18(250 mm×4.6 mm,5 μm)column with acetonitrile-water(32:68) as mobile phase, the flow rate was 1.0 mL/min, the column temperature was 25 ℃, the drift tube temperature was 60 ℃. **Results** There was good linearity in the range of 0.012 52—0.200 32 mg/mL of astragaloside IV ($r=0.996 6$), the average recovery rate was 92.56% (RSD=1.13%). **Conclusion** This method referenced above is simple, accurate, reproducible, and could be used for quality control of Yangxueguchong mixture.

【Key words】 Yangxueguchong mixture; HPLC-ELSD; astragaloside IV; content determination

养血固冲合剂是以《医学衷中参西录》中所载的“固冲汤”为基础,经本院中医妇科多年临床实践,并配伍阿胶、熟地等药材配制而成的纯中药制剂。具有健脾益气、补肾固冲、养血止血的功效,对治疗月经过多、月经不调、子宫功能性出血等各种子宫出血所致的冲任失固、气血两虚病症有明显疗效。方中君药黄芪的主要活性成分黄芪甲苷具有调节机体免疫力、保护组织器官、降低血糖、抗细胞凋亡和抗炎抗病毒等多方面的药理作用,通常作为黄芪药材及其制剂质量控制的主要指标^[1-3]。本制剂原有质量标准以性状鉴别,外观观察 pH 值、相对密度测定为主,无含量测定项,为有效控制该制剂的内在质量情况,本文参考《中国药典》^[4]及相关文献^[5-8],采用高效液相色谱-蒸发光散射检测法(HPLC-ELSD)对黄芪甲苷进行含量测定。经考察,该方法重现性好、灵敏度高,可作为养血固冲合剂的质量控制方法。

1 材料与方法

1.1 材料 Agilent1200 高效液相色谱仪;Alltech 3300 型蒸发光散射检测器。黄芪甲苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110781-200613);养血固冲合剂(本院中药制剂室,批号 091221、100806、110411);乙腈为色谱纯,甲醇、正丁醇等为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 色谱条件 DiamonsilC18 色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm),流动相:乙腈-水(32:68),流速 1 mL/min,柱温 25 ℃,漂移管温度 60 ℃,理论板数按黄芪甲苷峰计算应不低于 4 000。

1.2.2 供试品溶液制备 精密量取养血固冲合剂 25 mL,置分液漏斗中,用水饱和的正丁醇振摇提取 5 次,每次 25 mL,合并正丁醇液,加氨试液 25 mL,振摇,放置,充分洗涤 3 次,正丁醇液蒸干,残渣用甲醇溶解并转移至 10 mL 容量瓶中,用甲醇

稀释至刻度,摇匀,即得。

1.2.3 对照品溶液制备 精密称取黄芪甲苷对照品 12.52 mg 置 25 mL 容量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得浓度为 0.500 8 mg/mL 的对照品溶液。

1.2.4 阴性对照品溶液制备 按处方配制不含黄芪的样品,照“1.2.2”项下方法制备阴性对照品溶液。Agilent1200 高效液相色谱仪;Alltech 3300 型蒸发光散射检测器。

2 结果

2.1 空白试验 吸取上述供试品溶液,对照品溶液,阴性对照品溶液,按“1.2.1”项下色谱条件进行测定,结果显示于供试品溶液与对照品溶液色谱图中相应的位置上,黄芪甲苷有相同保留时间的色谱峰,该色谱峰与其他色谱峰的分度大于 1.5,阴性对照品在相应的位置无色谱峰,对含量测定无干扰。

2.2 线性关系考察 精密吸取黄芪甲苷对照品溶液 0.25、0.5、1、2、4 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀。分别吸取上述溶液 20 μL,注入液相色谱仪,按“1.2.1”项下色谱条件进行测定,以对照品进样浓度为横坐标,以峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程为 $Y=8163.67X+884.55$, $r=0.996 6$ 。表明黄芪甲苷在 0.012 52~0.200 32 mg/mL 浓度范围内线性关系良好。

2.3 精密度试验 精密吸取浓度为 0.100 2 mg/mL 的对照品溶液 20 μL,重复进样 6 次,按“1.2.1”项下色谱条件进行测定,结果黄芪甲苷峰面积值的 RSD=1.74%,表明仪器精密度良好。

2.4 重复性试验 精密称取同一批样品 6 份,照“1.2.2”项下方法制成供试品溶液,按“1.2.1”项下色谱条件平行测定 6 次。以黄芪甲苷的峰面积计算,RSD=1.98%。

2.5 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于 0、2、4、6、8、12 h 进样测定,结果黄芪甲苷峰面积的 RSD=2.00%,表明供试

品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.6 加样回收率试验 见表 1。精密量取已知含量的样品溶液 6 份,每份 10 mL,分别加入对照品溶液各 1 mL,照“1.2.2”项下方法制成供试品溶液,按“1.2.1”项下色谱条件测定,分别计算回收率,平均回收率为 92.56%,RSD=1.13%。

表 1 加样回收率试验结果(n=6)

编号	样品中含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)
1	0.415 0	0.500 8	0.882 7	93.39
2	0.415 0	0.500 8	0.874 6	91.77
3	0.415 0	0.500 8	0.883 7	93.59
4	0.415 0	0.500 8	0.874 3	91.71
5	0.415 0	0.500 8	0.872 5	91.35
6	0.415 0	0.500 8	0.883 4	93.53

2.7 样品含量测定 分别取批号为 091221、100806、110411 的样品,照“1.2.2”项下方法制成供试品溶液,按“1.2.1”项下色谱条件测定并计算含量,结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果(n=3)

批号	含量(μg/mL)	RSD(%)
091221	41.5	1.67
100806	42.7	1.42
110411	43.2	1.53

3 讨 论

黄芪的主要成分黄芪甲苷,其含量测定方法主要有薄层扫描法和 HPLC。由于薄层扫描法受薄层板铺制,色谱展开条件,层析后显色剂量及薄层板加热时间等多因素的影响,重复性较差,现在已很少使用。黄芪甲苷分子内没有生色团,仅在近紫外区 200~210 nm 内有微弱的吸收(又称为末端吸收)。而黄芪及其他药材所含的氨基酸、多糖和黄酮类化合物在 200 nm 附近也存在吸收,直接采用 HPLC 测定黄芪甲苷的含量干扰多,准确性低,灵敏度差。而蒸发光散射检测器对于在近紫外区无紫外吸收或紫外吸收较弱的皂苷类化合物灵敏度和准

确性较高,稳定性较理想,故选用 HPLC-ELSD 作为本研究测定黄芪甲苷的方法。

在供试品溶液的制备过程中,比较了萃取法和萃取合并大孔树脂吸附法。结果显示,经萃取法提取的样品在黄芪甲苷保留时间处无干扰峰出现,分离度好,黄芪甲苷的转移率可达 70%~80%;通过大孔树脂吸附洗脱的样品,可去除一部分杂质,但黄芪甲苷也会有损失,转移率为 30%~50%,且重复性也较差。故选用萃取法。

在萃取过程中振摇要充分,动作要轻柔。在用氨试液洗涤时放置时间要长。否则黄芪甲苷提取不完全,含量测定结果易偏低。

本文建立的实验方法稳定,简便,重复性好,可用于养血固冲合剂的质量控制。

参考文献

[1] 段立军,孙博航. 黄芪甲苷的研究进展[J]. 沈阳药科大学学报,2011,28(5):410-416.

[2] 黄玫,曲晶,李晓天,等. 黄芪化学成分及对心血管系统作用的研究进展[J]. 中国老年学杂志,2009,29(11):1451-1453.

[3] 陈国辉,黄文凤. 黄芪的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国新药杂志,2008,17(17):1482-1485.

[4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2010 年版(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:284-285.

[5] 陈祖云,石凌云,黄勇,等. HPLC-ELSD 法测定脑通颗粒中黄芪甲苷和人参皂苷 Rb1 的含量及稳定性[J]. 中国药房,2011,22(23):2164-2166.

[6] 裴彩云,王宗权,贾继明,等. HPLC-ELSD 内标法测定 8 个产地黄芪药材、饮片中黄芪甲苷的含量[J]. 中国中药杂志,2011,36(14):1982-1984.

[7] 李静,林晓,高辉. HPLC-ELSD 法测定阿胶补血口服液黄芪甲苷的含量[J]. 齐鲁药事,2011,30(5):269-270.

[8] 胡端龙,姜丽珍,吴静芸,等. 丹溪玉屏风颗粒中黄芪甲苷的含量测定[J]. 中国现代中药,2011,13(6):41-42.

(收稿日期:2013-05-20 修回日期:2013-08-02)

(上接第 3274 页)

a systematic review and meta-analysis[J]. Infect,2010,60(5):313-319.

[2] 梁秀云. 冠心病患者 hs-CRP 和 IgE 水平变化及临床意义[J]. 检验医学与临床,2012,9(16):2054-2055.

[3] 秦福丽,郭志强,邓梅,等. 降钙素原与 C 反应蛋白在血液病患者感染诊治中的临床应用[J]. 临床内科杂志,2013,30(1):59-60.

[4] 郁秀莉,何元兵,夏宇,等. 血清降钙素原与 C 反应蛋白在社区获得性肺炎和肺结核中的诊断价值[J]. 中国呼吸与危重监护杂志,2013,12(2):190-192.

[5] van Vugt SF, Broekhuizen BD, Lammens C, et al. Use of serum C reactive protein and procalcitonin concentrations in addition to symptoms and signs to predict pneumonia in patients presenting to primary care with acute cough: diagnostic study[J]. BMJ,2013,30:346-348.

[6] Saeed K, Dryden M, Sitjar A, et al. Measuring synovial fluid procalcitonin levels in distinguishing cases of septic arthritis, including prosthetic joints, from other causes of arthritis and aseptic loosening[J]. Infection,2013,41(4):845-849.

[7] 张爱华,付汉东,沈红园,等. PCT、hsCRP 在儿童不明原因发热诊断中的应用[J]. 中国感染控制杂志,2012,11(4):274-277.

[8] 赵小娟,汪国生,余大亮,等. 系统性红斑狼疮外周血树突状细胞的变化及意义[J]. 安徽医科大学学报,2012,47(8):948-951.

[9] 王晓燕,王永福,李青,等. TNF-α 及其可溶性受体在系统性红斑狼疮中的临床意义[J]. 包头医学院学报,2008,24(5):494-496.

(收稿日期:2013-05-13 修回日期:2013-07-12)