

健肾胶囊中黄芪甲苷的含量测定

★ 杨志华 陈德梅 张灼锐 郑耀东 (广东省汕头市皮肤性病防治院 汕头 515000)

摘要:目的:建立健肾胶囊中黄芪甲苷的含量测定方法。方法:采用薄层扫描法,硅胶 G 为薄层板材料,氯仿-醋酸乙酯-甲醇-水(15:40:22:10)在 10℃ 以下放置的下层为展开剂,以 10% 硫酸乙醇溶液为显色剂。结果:黄芪甲苷在 0.54~4.32 μg 范围内呈现良好的线性关系。平均回收率为 97.30%,RSD 为 1.40%。结论:方法准确、可靠,可用于健肾胶囊中黄芪甲苷的含量测定。

关键词:健肾胶囊;黄芪甲苷;薄层扫描法

中图分类号:TQ 460.7+2 **文献标识码:**A

健肾胶囊由黄芪、苍术、山药、当归等药物组成,具有滋肾凉血,利湿解毒的功效。方中黄芪为君药,黄芪甲苷为黄芪中主要成分之一^[1~5],制剂中成分复杂,为控制本品的内在质量,本文采用薄层扫描法测定黄芪中黄芪甲苷的含量,为制剂的质量保证奠定了基础。

1 仪器与材料

1.1 仪器 瑞士 CAMAG Scanner III 薄层色谱扫描仪;瑞士 CAMAG Automatic TLC Sampler 4 全自动点样仪;薄层数码相机系统;瑞士 CAMAG APC 薄层自动展开仪;BP211D 电子分析天平(Sartorius-德国);PBQ-II 型薄层铺板仪(重庆南岸新力实验电器厂)。

1.2 材料 健肾胶囊及所用药材均由广东某药厂提供,黄芪甲苷对照品由中国药品生物制品检定所提供;硅胶 G(薄层色谱用,青岛海洋化工厂生产);试剂均为分析纯。

2 方法与结果

率为 99.04%,符合规定。

表 1 芦丁回收率试验结果

编号	取样量/g	芦丁含量/mg	芦丁加入量/mg	测得芦丁总量/mg	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	0.5024	6.6317		13.463	99.93		
2	0.4856	6.4099		13.1468	99.22		
3	0.511	6.7452	6.84	13.3741	98.45	99.04	0.6
4	0.4936	6.5155		13.1552	98.5		
5	0.4956	6.5419		13.2735	99.1		

3.6 样品的测定 取三批样品按含量测定项下的方法提取、测定并计算含量,每份样品测定 3 次取均值。结果分别为 3.35 mg/片(批号 040301)、2.73 mg/片(批号 040302)、3.29 mg/片(批号 040303)。

4 讨论

骨碎补项因样品色谱中与柚皮苷对照品相应的

2.1 薄层色谱条件 层析板:硅胶 G 20 g,加水 55 mL,混匀,置自动铺板器上铺板(20 cm×10 cm),晾干,于 105℃ 加热约 1 小时,放入干燥器备用;展开剂:氯仿-醋酸乙酯-甲醇-水(15:40:22:10)在 10℃ 以下放置的下层为展开剂,展开 10 cm。

2.2 对照品溶液的制备 取黄芪甲苷对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含 0.54 mg 的溶液,作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备 取本品粉末 3 g,加甲醇 40 mL,浸泡过夜,再加入甲醇 25 mL,置索氏提取器中提取至提取液无色,蒸干,残渣加水 20 mL 溶解,以水饱和的正丁醇萃取 4 次(30, 20, 20, 20 mL),合并正丁醇液,以 1% NaOH 溶液洗 2 次(20, 20 mL),继用正丁醇饱和的水洗至中性,正丁醇液蒸干,残渣加少量水溶解,加于已处理好的 D₁₀₁ 皂苷类吸附树脂柱(内径 15 mm,长 12 cm)上,先以 50 mL 水洗脱,继用 40% 的乙醇 30 mL 洗脱,再用 70% 的乙醇 80 mL 洗脱,收集 70% 的乙醇洗脱液,

位置未见相应斑点,经碘熏后空白对照有干扰。牛膝和女贞子中的齐墩果酸鉴别无专属性,且其它色谱斑点也很相似,故制剂的质量标准未增加骨碎补、牛膝、女贞子的鉴别。

虽然骨碎补是该方中的君药,但测定其在骨仙片中的柚皮苷含量得知,转移率非常低,约 20%,在实际的质量控制上缺乏意义。骨碎补、菟丝子、黑豆及粉防己等药材中均含黄酮类成分,具有活血化瘀、消炎镇痛等功效。因此,以芦丁为对照品测定总黄酮含量,具有一定的意义。

参考文献

[1] 中华人民共和国药典 2000 年版[一部][S]. 北京:化学工业出版社,2000,291~292 (收稿日期:2006-01-05)

蒸干,残渣加甲醇 2 mL 使溶解,作为供试品溶液。

2.4 扫描波长的选择 吸取黄芪甲苷对照品溶液 4 μ L 点于薄层板上,展开后取出,晾干,喷以 10% 的硫酸乙醇液,于 105 $^{\circ}$ C 烘至斑点显色清晰,在薄层板上覆盖同样大小的玻璃板,周围用胶布固定,置扫描仪用钨灯进行扫描,经测定,最大吸收波长为 530 nm。

2.5 线性关系考察 分别精密吸取对照品溶液 1、2、4、6、8 μ L,点于同一薄层板上,按拟定条件展开,显色后置扫描仪上进行测定。以对照品量为横座标 X,斑点峰面积积分值为纵座标 Y,得回归方程: $Y = 2\,123.856 + 3\,378.868X$, $r = 0.990\,7$ 。结果表明黄芪甲苷在 0.54~4.32 μ g 范围内呈现良好的线性关系。

2.6 精密度试验 取同一供试品溶液于同一硅胶 G 薄层板及不同硅胶 G 薄层板上重复点样测定,结果板内斑点峰面积 $RSD = 1.69\%$,板间斑点峰面积 $RSD = 2.03\%$,表明方法的精密度良好。

2.7 稳定性试验 吸取供试品溶液点于同一硅胶 G 薄层板上,展开,显色,每隔 30 分钟扫描一次,连续扫描测定 6 次,实验表明,薄层显色在 2.5 小时内较稳定($RSD = 1.83\%$)。

2.8 重复性试验 按拟定的测定方法,对同一批样品(批号 021220)分别制备供试液,测得含量(mg/g)分别为 0.186,0.182,0.187,0.183,0.189, $RSD = 1.55\%$ ($n = 5$)。

2.9 加样回收率试验 取已知含量的样品,加入一定量黄芪甲苷对照品,依上述方法测定,计算回收率,平均回收率为 97.30%, $RSD = 1.40\%$ ($n = 5$)

表 1 健肾胶囊中黄芪甲苷回收率测定

编号	样重 /g	样品中黄芪 甲苷的量/mg	黄芪甲苷的 加入量/mg	黄芪甲苷的 检出量/mg	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	1.5657	0.2924	0.27	0.5590	98.74		
2	1.5582	0.2910	0.27	0.5520	96.67		
3	1.5567	0.2907	0.27	0.5564	98.41	97.30	1.40
4	1.5523	0.2877	0.27	0.5474	95.37		
5	1.5625	0.2918	0.27	0.5546	97.33		

2.10 样品测定 精密吸取供试品溶液 6 μ L,对照品溶液 2 μ L、6 μ L,点于同一硅胶 G 薄层板上,按上述方法展开,扫描。测量供试品吸收度积分值,以外标两点法计算,即得,结果见表 2。

表 2 黄芪甲苷含量测定($n = 5$)

批号	含量(%)	RSD(%)
020802	0.019	1.64
020903	0.020	1.62
021105	0.017	1.73
021220	0.019	1.59

3 讨论

黄芪甲苷含量测定试验中,采用通过大孔树脂排除干扰时,还应注意选用洗脱液乙醇的比例,当分别用水、10%乙醇、20%乙醇、30%乙醇和 40%乙醇洗脱时,除去杂质,不会造成黄芪甲苷损失。选用水及 40%乙醇洗脱杂质,收集 70%乙醇洗脱液备用。

本制剂由多味药物组成,由于黄芪甲苷的含量较低,干扰成分多,且硫酸显色的背景干扰大。本方法经过多种提取溶媒的比较,以水饱和和正丁醇最佳,样品再经 10% 的氢氧化钠溶液和正丁醇饱和水的洗涤,以及柱层析的纯化,背景干扰可降到最低限度。

参考文献

- [1] 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京:化学工业出版社,2000. 249
- [2] 陈发奎主编. 常用中草药有效成分含量测定[M]. 北京:人民卫生出版社,1997. 620
- [3] 苗明三主编. 现代实用中药质量控制技术[M]. 北京:人民卫生出版社,2002. 890
- [4] 郑虎占主编. 中药现代研究与应用[M]. 北京:学苑出版社,1997
- [5] 康廷国主编. 中成药薄层色谱鉴别[M]. 北京:人民卫生出版社, 1995

(收稿日期:2006-01-05)

Determination of astragaloside IV in Jianshen Capsule

YANG Zhihua, CHEN Demei, ZHANG Zhuorui, et al

(Shantou City Skin & Venereal disease prevention and cure Hospital, Shantou 515000)

Abstract: Objective: To establish a method to determine the content of astragaloside IV in Jianshen Capsule. Method: TLSC was used with silica gel G thin layer planet. chloroform-hydrochloric acid- methanol-water (15:40:22:10) was used as spread solvent and 10% H_2SO_4 /ETOH solution used as display solvent. Result: A good linear range of astragaloside IV was shown at the concentration from 0.54~4.32 μ g. The average recovery was 97.30% and the RSD was 1.40%. Conclusion: The method was accurate and credible. It can be used to determine the content of astragaloside IV in Jianshen Capsule.

Key words: Jianshen Capsule; Astragaloside IV; TLCS