

TLC-浓硫酸比色法测定黄芪及其制剂中黄芪甲甙的含量

解放军大连医学高等专科学校(大连 116013) 丁晨光 赖建忠 陈雨安 冯海鹰

黄芪是中医广为应用的中药,具有多种生理活性,黄芪甲甙(Astragaloside)为其主要活性成分之一,其测定方法有薄层扫描法^[1-3]。本文建立了TLC-浓硫酸比色法,对东北地区生药黄芪及其制剂中黄芪甲甙的含量进行了测定,并对反应条件进行了实验选择。该方法灵敏,仪器设备要求简单,操作简便,适用于黄芪及其制剂中黄芪甲甙的质控及含量测定。

仪器与药品

UV-240型分光光度仪(上分三厂)。黄芪甲甙标准品(中国药品生物制品检定所)。黄芪(大连药材公司)。黄芪制剂:胃垂灵糖浆(含黄芪、桑枝等),由沈阳军区大连药物研究所提供。硅胶G薄层板,青岛海洋化工厂。所用试剂均为分析纯。

实验条件和方法

1. 实验条件的选择

(1) 测定波长的选择 精称黄芪甲甙标准品5.9mg置10ml容量瓶中,无水乙醇微热溶解并稀释至刻度。取上液0.3ml,水浴挥干溶剂后加入浓硫酸4ml,摇匀,85℃水浴加热20min,放冷,于可见光范围进行扫描,得一 λ_{max} 422nm的吸收峰。

(2) 加热温度与时间的选择 精取标准品液0.3ml,挥干后精密加浓硫酸4.0ml,置于不同温度加热不同时间,取出放冷后,分别于波长422nm处测定吸收度,结果见表1。结果说明,反应温度为85℃,时间为20min时吸收值最大,此时为最佳反应条件。

(3) 稳定性试验 精取标准品液0.3ml,依上述条件测定反应停止后各时间A值,结果见表2。结果显示,测定液2h内吸收度保持稳定。

表1 不同时间和温度时黄芪甲甙的吸收度

时间(min)	温 度(°C)				
	70	80	85	90	95
5	0.609	0.775	0.785	0.786	0.820
10	0.679	0.820	0.826	0.832	0.835
20	0.710	0.838	0.861	0.829	0.818
30	0.727	0.834	0.844	0.823	0.792

表2 反应停止后不同时间的吸收度

n	立即测定	15min	30min	1h	2h
1	0.860	0.862	0.861	0.861	0.860
2	0.862	0.861	0.861	0.860	0.860

2. 样品测定

(1) 标准曲线的绘制 分别精密取标准品液 0.05、0.1、0.2、0.3、0.4ml 于各具塞试管中, 挥干, 精密加浓硫酸 4.0ml, 振荡摇匀, 85℃ 水浴加热 20min, 放冷, 于波长 422nm 处测定吸收度。结果, 浓度在 30~250 μ g 之间与吸收度呈线性关系。回归方程为 $A = 0.00403 + 5.015C$, $r = 0.9999$ 。

(2) 生药黄芪的测定 精称黄芪粉 3g, 加甲醇 100mL, 索氏提取器回流 4h, 回收溶剂, 残渣用 10mL E 丁醇溶解, E 丁醇用水洗

后, 加热回收至近干, 然后转移到 2mL 容量瓶中, 加 E 丁醇至刻度, 摇匀作为样液。精密量取上述样液 100 μ l, 于硅胶 G 板上条状点样, 同板点对照标准品液, 以 CHCl_3 — CH_3OH — H_2O (6.5 : 3.5 : 1) 上行展开, 展开毕, 将对照品喷硫酸乙醇液, 烘烤呈紫色斑点, 根据其定位, 刮取样液部分的硅胶于一具塞试管中, 精加浓 H_2SO_4 4ml, 其余条件同上, 在加热放冷后, 离心 5min (3500 转/min), 取上清液于波长 422nm 测吸收度, 空白液同法制做, 测定结果见表 3。

表 3 生药黄芪中黄芪甲甙的含量

产地	每克生药黄芪甲甙含量(mg)	n	RSD(%)
辽宁	0.3389	5	1.84
吉林	0.6521	5	2.21
黑龙江	0.7216	5	1.24

(3) 制剂中黄芪甲甙的测定 精密取胃垂灵糖浆 5ml, 锻石膏分散制粒, 70℃ 烘干后, 加甲醇 100ml, 余操作同生药黄芪的测定以“置索氏提取器回流……”开始, 同法提取并测定(同时制做不含黄芪的空白样液, 经测定在 422nm 无吸收) 代入回归方程计算, 结果见表 4。

表 4 胃垂灵糖浆中黄芪甲甙的含量

批号	黄芪甲甙含量(mg/10ml)	n	RSD(%)
900109	0.068	5	2.0
900418	0.072	5	1.82
910102	0.075	5	1.14
910224	0.079	5	1.44

3. 回收率试验

精取标准品液 100 μ l, 于硅胶 G 板上条状点样, 余操作同生药黄芪的测定从“同板点黄芪甲甙标准品液对照定位……”开始, 依法测定吸收度。根据代入回归方程计算, 回收率平均为 96.5%, $n = 5$, $RSD = 1.24\%$ 。

讨论

本实验在测定时, 曾采用香草醛-硫酸为显色剂, 但该显色剂不稳定, 操作条件复杂。我们又试用了二氯化钴-冰醋酸, [4] 但该显色剂灵敏度低。采用浓硫酸做显色剂, 较好的克服了上两显色剂的缺点, 且操作简便, 回收率也较好。

参 考 文 献

- [1] 李连达等. 中国中药杂志, 1991, 16(2): 90
- [2] 鲁静等. 中成药, 1992, 14(6): 34
- [3] 王兰霞等. 中成药, 1992, 14(11): 16
- [4] 中国医学科学院药物研究所. 薄层层析及其在中草药分析中的应用. 北京: 科学出版社, 1978. 298