

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.09.018

# 反相高效液相色谱法测定参芪降糖胶囊中梓醇含量\*

冯光军<sup>1</sup>, 罗丹<sup>2</sup>, 冉凤英<sup>2</sup>, 杨洋<sup>1</sup>, 杨光义<sup>1</sup>, 梅全喜<sup>1</sup>, 陈琴华<sup>1△</sup>

(1. 广东省深圳市宝安纯中医治疗医院药学部, 广东 深圳 518101; 2. 湖北医药学院附属东风医院医学实验中心, 湖北 十堰 442008)

**摘要:**目的 建立测定参芪降糖胶囊中梓醇含量的反相高效液相色谱(RP-HPLC)法。方法 色谱柱为 Linksil HPLC Column ODS C<sub>18</sub>柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液(2:98, V/V), 流速为 0.8 mL/min, 检测波长为 205 nm, 柱温为 30 ℃, 进样量为 10 μL。结果 梓醇质量浓度在 1~100 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好; 精密性、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 2% (n=6); 平均加样回收率为 103.45%, RSD 为 1.61% (n=6)。结论 该方法分离效果和重复性均良好, 测定结果准确, 回收率高, 可用于参芪降糖胶囊中梓醇的含量测定。

**关键词:**参芪降糖胶囊; 梓醇; 反相高效液相色谱法; 含量测定

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2021)09-0063-03

## Content Determination of Catalpol in Shenqi Jiangtang Capsules by RP-HPLC

FENG Guangjun<sup>1</sup>, LUO Dan<sup>2</sup>, RAN Fengying<sup>2</sup>, YANG Yang<sup>1</sup>, YANG Guangyi<sup>1</sup>, MEI Quanxi<sup>1</sup>, CHEN Qinhu<sup>1</sup>

(1. Department of Pharmacy, Shenzhen Bao'an Authentic TCM Therapy Hospital, Shenzhen, Guangdong, China 518101; 2. Department of Medical Experimental Center, Affiliated Dongfeng Hospital of Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei, China 442008)

**Abstract: Objective** To establish a reverse phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC) method for the content determination of catalpol in Shenqi Jiangtang Capsules. **Methods** The chromatographic column was Linksil HPLC Column ODS C<sub>18</sub> column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (2:98, V/V), the flow rate was 0.8 mL/min, the detection wavelength was 205 nm, the column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 10 μL. **Results** The linear range of catalpol was 1-100 μg/mL, the RSDs of precision, stability and repeatability tests were less than 2% (n=6). The average recovery of catalpol was 103.45% with RSD of 1.61% (n=6). **Conclusion** The method has a good separation effect and repeatability, accurate results and a high recovery rate, which can be used for the content determination of catalpol in Shenqi Jiangtang Capsules.

**Key words:** Shenqi Jiangtang Capsules; catalpol; RP-HPLC; content determination

参芪降糖胶囊是由人参茎叶皂苷、五味子、黄芪、山药、地黄、覆盆子、麦冬、茯苓、天花粉、泽泻、枸杞子 11 味中药材组方的复方制剂<sup>[1]</sup>, 具有益气养阴、滋脾补肾功效, 主要用于治疗消渴症及 2 型糖尿病。现代研究表明, 参芪降糖胶囊能降低糖尿病周围神经病变患者血清内皮素 1 (ET-1)、白细胞介素 6 (IL-6) 及肿瘤坏死因子-α (TNF-α) 水平, 疗效显著<sup>[2-4]</sup>, 能显著降低血糖, 调节血脂水平, 预防糖耐量异常向糖尿病转化<sup>[5-8]</sup>。目前对参芪降糖胶囊的质量控制主要针对人参和黄芪的活性成分, 采用薄层色谱法和高效液相色谱 (HPLC) 法进行含量测定<sup>[9]</sup>。地黄为常用补益中药, 具有调节心血管、免疫、中枢等系统功能, 以及降糖、降压等生物活性<sup>[10-11]</sup>。以梓醇为代表的环烯醚萜苷类是地黄最主要的活性成分, 具有降血糖、利尿、缓和泻下等作用<sup>[12-13]</sup>, 同为参芪降糖胶囊的主要有效成分。本研究中建立了梓醇的含量测定方法, 为参芪降糖胶囊的质量控制提供参考。现

报道如下。

### 1 仪器与试剂

#### 1.1 仪器

Shimadzu LC-9A 型高效液相色谱仪 (日本岛津有限公司), 配有紫外检测器和浙江大学开发的 N2000 型色谱工作站; KQ-100DB 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司, 功率为 100 W, 频率为 40 kHz); AEU-210 型电子天平 (日本岛津有限公司, 精度为百万分之一)。

#### 1.2 试剂

梓醇对照品 (中国食品药品检定研究院, 批号为 110808-201711, 规格为每瓶 20 mg, 纯度≥98%, 供含量测定用); 参芪降糖胶囊 (五 O 五药业有限公司, 批号分别为 1712025, 1805102, 1808065, 规格为每粒 0.35 g); 乙腈 (色谱纯, 十堰市化学试剂厂); 水为微孔滤膜过滤纯化水, 其余试剂均为分析纯。

\* 基金项目: 广东省深圳市宝安区医疗卫生基础研究项目 [2020JD491]; 广东省深圳市宝安区纯中医治疗医院内科研项目 [BCZY2021007]。

第一作者: 冯光军, 男, 硕士研究生, 副主任药师, 研究方向为中药分析, (电子信箱) 70768166@qq.com。

△通信作者: 陈琴华, 男, 博士研究生, 主任药师, 研究方向为药物分析, (电子信箱) cqh77@163.com。

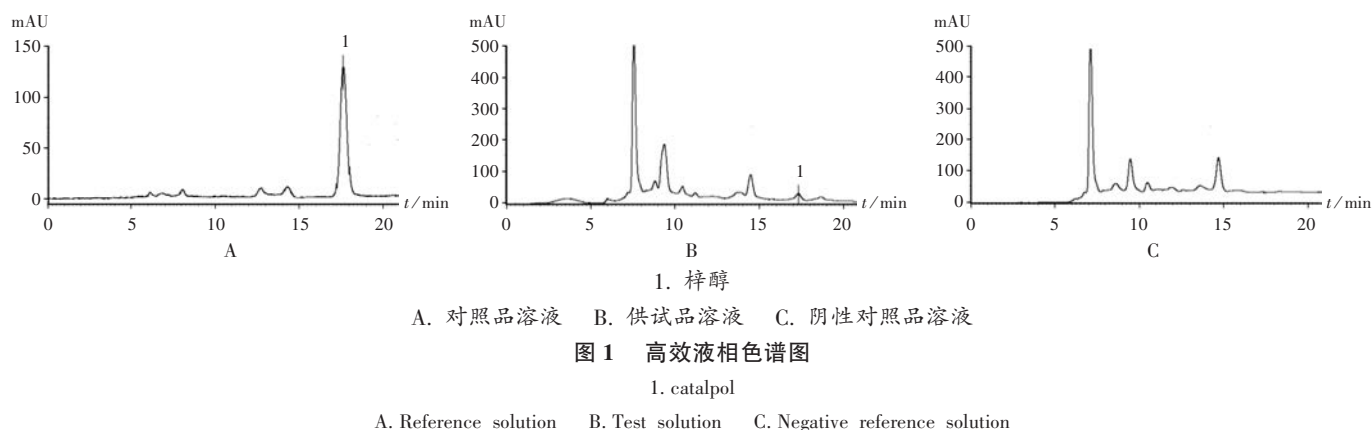


Fig. 1 HPLC chromatograms

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱: Linksil HPLC Column ODS  $C_{18}$  柱(250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m); 流动相: 乙腈-0.1% 磷酸溶液(2:98, V/V); 流速: 0.8 mL/min; 柱温: 30  $^{\circ}$ C; 检测波长: 205 nm; 进样量: 10  $\mu$ L。

### 2.2 溶液制备

取梓醇对照品 10 mg, 精密称定, 置 100 mL 容量瓶中, 加甲醇, 超声溶解, 并用甲醇定容, 制成含梓醇 100  $\mu$ g/mL 的对照品溶液。取样品 10 粒, 倾出内容物, 研细, 取 2.5 g, 精密称定, 置 25 mL 容量瓶中, 加甲醇 20 mL, 称定质量, 超声提取 30 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 用 0.45  $\mu$ m 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。按处方工艺制备缺地黄的阴性对照样品, 再按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

### 2.3 方法学考察

专属性试验: 精密吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照品溶液各 10  $\mu$ L, 按 2.1 项下色谱条件进样测定。色谱图见图 1。结果理论板数按梓醇峰计均大于 9000, 分离度均大于 1.5, 基线分离良好。

线性关系考察: 分别精密吸取 2.2 项下对照品溶液(100  $\mu$ g/mL) 适量, 置 10 mL 容量瓶中, 以甲醇定容, 分别制成含梓醇质量浓度为 1, 5, 10, 20, 50, 100  $\mu$ g/mL 的系列对照品溶液。吸取上述溶液各 10  $\mu$ L, 按 2.1 项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 以对照品溶液质量浓度( $X$ ,  $\mu$ g/mL) 为横坐标、峰面积( $Y$ ) 为纵坐标进行线性回归, 得回归方程  $Y = 7\,170X - 7\,671$ ,  $R^2 = 0.998\,1$  ( $n = 6$ )。结果表明, 梓醇质量浓度在 1 ~ 100  $\mu$ g/mL 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验: 吸取梓醇对照品溶液(20  $\mu$ g/mL), 按 2.1 项下色谱条件进样 10  $\mu$ L, 连续进样 6 次, 记录峰面积。结果的  $RSD$  为 0.98% ( $n = 6$ ), 表明仪器精密度良好。

稳定性试验: 取样品(批号为 1805102) 适量, 研细, 依法制备供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 时进样

测定, 记录峰面积。结果的  $RSD$  为 1.02% ( $n = 6$ ), 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

重复性试验: 取样品(批号为 1805102) 适量, 研细, 依法制备供试品溶液 6 份, 按 2.1 项下色谱条件进样测定 6 次, 记录峰面积, 并计算含量。结果平均含量为 110  $\mu$ g/g,  $RSD$  为 1.96% ( $n = 6$ ), 表明方法重复性良好。

加样回收试验: 取样品(批号为 1805102, 梓醇含量为 110  $\mu$ g/g) 1.0 g, 研细, 精密称定, 依法制备供试品溶液 6 份, 各加入梓醇对照品溶液(100  $\mu$ g/mL) 1 mL, 按 2.1 项下色谱条件进样 10  $\mu$ L, 测定峰面积, 并计算回收率。结果见表 1。

表 1 加样回收试验结果 ( $n = 6$ )

| Tab. 1 Results of the recovery test ( $n = 6$ ) |                |               |               |        |               |           |
|-------------------------------------------------|----------------|---------------|---------------|--------|---------------|-----------|
| 取样量(g)                                          | 样品含量( $\mu$ g) | 加入量( $\mu$ g) | 测得量( $\mu$ g) | 回收率(%) | $\bar{X}$ (%) | $RSD$ (%) |
| 1.02                                            | 110.20         | 100.00        | 212.00        | 101.80 | 103.45        | 1.61      |
| 0.98                                            | 107.80         | 100.00        | 212.30        | 104.50 |               |           |
| 1.01                                            | 111.10         | 100.00        | 212.40        | 101.30 |               |           |
| 1.00                                            | 110.00         | 100.00        | 215.60        | 105.60 |               |           |
| 0.99                                            | 108.90         | 100.00        | 212.10        | 103.20 |               |           |
| 1.01                                            | 111.10         | 100.00        | 215.40        | 104.30 |               |           |

### 2.4 样品含量测定

取 3 批(批号分别为 1712025, 1805102, 1808065) 样品, 取出内容物, 研细, 依法制备供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件进样 10  $\mu$ L。结果 3 批样品中梓醇含量分别为 110, 105, 108  $\mu$ g/g。

## 3 讨论

本试验中采用反相高效液相色谱法测定参芪降糖胶囊中梓醇的含量, 前期处理简便, 结果准确。对梓醇对照品溶液进行了全波长扫描, 最大波长为 205 nm。考察了甲醇-0.1% 磷酸溶液、乙腈-0.1% 磷酸溶液, 结果发现, 以乙腈-0.1% 磷酸溶液(2:98, V/V) 为流动相时, 梓醇与其他成分分离良好, 保留时间适中。考察了水-甲醇、甲醇、乙醇超声提取对梓醇含量测定的影响, 结果发现, 用甲醇超声提取, 样品杂质少, 提取效