

熟地黄中毛蕊花糖苷含量的测定 高效液相色谱法

一、摘要

本文使用悟空 K2025 高效液相色谱仪测定熟地黄中毛蕊花糖苷的含量。连续进样 7 针，其峰面积的重复性完全满足 2020 年版《中国药典》的要求。

二、背景

熟地黄为生地黄的炮制加工品，收录于 2020 年版《中国药典》中，其补血滋阴，益精填髓。用于血虚萎黄，心悸怔忡，月经不调，崩漏下血，肝肾阴虚，腰膝酸软，骨蒸潮热，盗汗遗精，内热消渴，眩晕，耳鸣，须发早白。其中在 2020 年版《中国药典》规定，可利用高效液相色谱法测定熟地黄中毛蕊花糖苷的含量以控制药物质量。

三、实验过程

1 范围

适用于熟地黄中毛蕊花糖苷含量的测定

2 原理

毛蕊花糖苷易溶于乙腈-0.1%醋酸溶液（16:84）的流动相中，在 334nm 处有紫外吸收，使用高效液相色谱法进行检测，外标法定量。

3 试剂与材料

3.1 水：符合 GB/T 6682 的一级水；

3.2 甲醇：色谱纯；

3.3 醋酸：优级纯；

3.4 0.22 μ m 微孔尼龙滤膜。

3.5 0.1%醋酸水溶液：吸取 1mL 醋酸用一级水定容至 1L，过 0.22 μ m 滤膜。

4 仪器与设备

4.1 高效液相色谱仪: K2025 P2 二元高压输液泵、K2025 AS 自动进样器、K2025 CO 柱温箱、K2025 UVD 紫外-可见光检测器;

4.2 分析天平: 精确到 0.0001g;

5 测定步骤

5.1 对照品溶液的制备

取毛蕊花糖苷对照品适量, 精密称定, 加流动相制成每 1ml 含 10 μg 的溶液, 即得。

5.2 样品前处理

取本品最粗粉约 2g, 精密称定, 置圆底烧瓶中, 精密加入甲醇 100ml, 称定重量, 加热回流 30 分钟, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 50ml, 减压回收溶剂近干, 残渣用流动相溶解, 转移至 10ml 量瓶中, 加流动相至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

5.2 测定

5.2.1 色谱条件:

- a) 色谱柱: C18 4.6×250mm, 5μm 或者相当的色谱柱;
- b) 流动相: 乙腈-0.1%醋酸溶液 (16:84)
- c) 柱温: 30℃;
- d) 进样量:20μL;
- e) 流速: 1mL/min;
- f) 波长: 334nm;

5.2.2 空白试验

取流动相作为空白, 上机进行检测。

6 结果计算

熟地黄中毛蕊花糖苷的测定浓度 c , 按公式 (A.1) 计算:

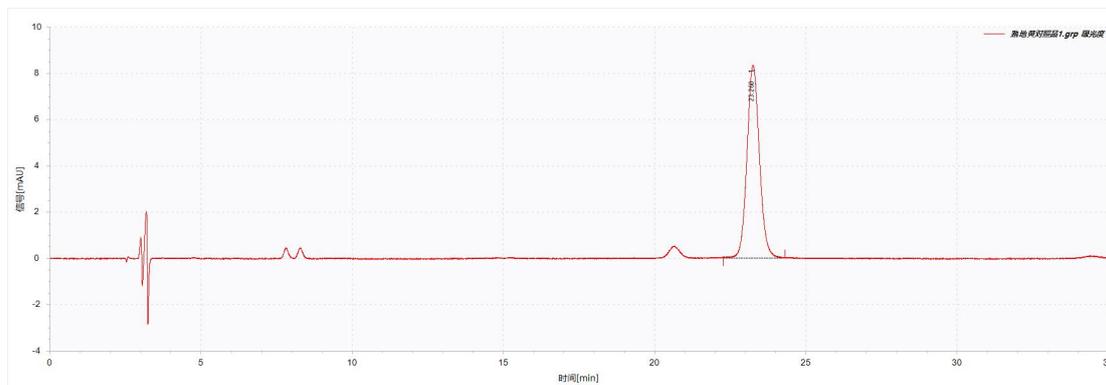
$$c = \frac{A \times c_i}{A_i} \dots\dots\dots (A.1)$$

A_i ---对照品峰面积;

A ---供试品的峰面积 (去除空白中的出峰)。

C_i---对照品的浓度

7 色谱图及重复性结果



	保留时间[min]	峰面积[mAU.s]	峰高[mAU]	理论塔板数	对称/拖尾因子
▶ 1	23.260	238.739	8.342	15872.397	1.091
* 合计		238.739	8.342		

图 1 对照品色谱图

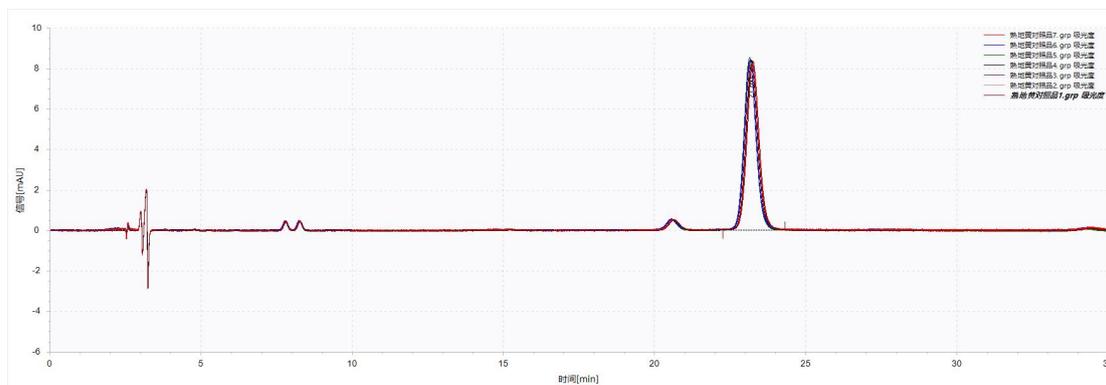
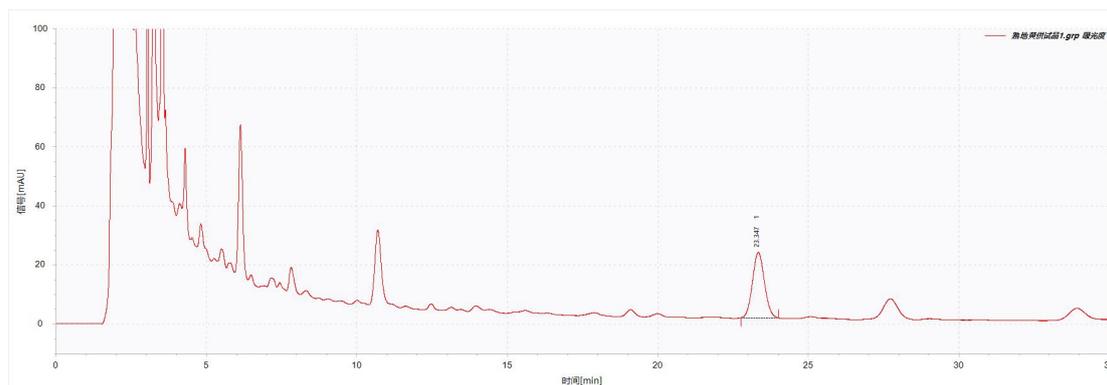


图 2 进样 7 针对照品色谱图的叠加图

表 1 进样 7 针对照品重复性计算结果

对照品		第 1 针	第 2 针	第 3 针	第 4 针	第 5 针	第 6 针	第 7 针	平均值	SD	RSD%
	保留时间	23.26	23.237	23.187	23.222	23.158	23.158	23.228	23.207	0.040	0.172
	峰面积	238.739	237.994	239.513	239.211	240.648	237.989	237.643	238.820	1.060	0.444



	保留时间[min]	峰面积[mAU.s]	峰高[mAU]	理论塔板数	对称/拖尾因子
▶ 1	23.347	614.168	22.205	16397.296	1.066
* 合计		614.168	22.205		

图 3 供试品色谱图

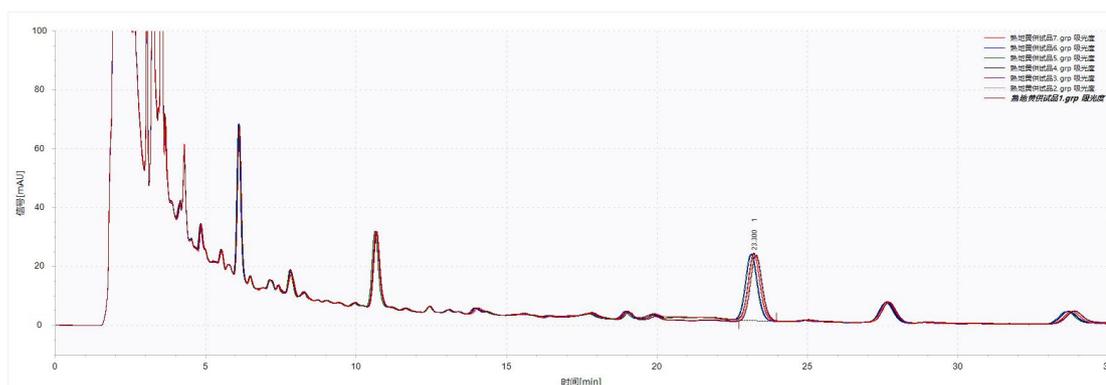


图 4 进样 7 针供试品色谱图的叠加图

表 2 进样 7 针供试品重复性计算结果

供试品		第 1 针	第 2 针	第 3 针	第 4 针	第 5 针	第 6 针	第 7 针	平均值	SD	RSD%
	保留时间		23.347	23.300	23.267	23.302	23.227	23.125	23.155	23.246	0.082
峰面积		614.168	615.778	612.781	615.768	614.859	612.476	615.137	614.424	1.348	0.219

8 结论

对洗脱条件进行重复性测试, 进样 7 针对照品保留时间的 RSD 为 0.172%; 进样 7 针对照品峰面积的 RSD 为 0.444%, 满足药典要求小于 2.0%。进样 7 针供试品, 保留时间 RSD 为 0.351%; 进样 7 针供试品峰面积的 RSD 为 0.219%, 满足药典要求小于 2.0%。