

· 临床经验 ·

白康 I 号冲剂中黄芪甲苷的含量测定及临床应用

陈家鲁

【摘要】 目的 建立白康 I 号冲剂(含黄芪、首乌等)中黄芪甲苷的含量测定方法,并对其近年来的临床使用情况进行总结。**方法** 以高效液相色谱-蒸发光散射检测法(HPLC-ESLD)测定白康 I 号冲剂中黄芪甲苷的含量。**结果** 平均加样回收率为 97.53%。线性回归方程为 $Y = 1.4847X + 11.806$ ($Y = \ln A, X = \ln Q$),相关系数(r) = 0.9996。**结论** 本法具有准确度高,简便快捷,干扰少,重现性好的优点,可用于白康 I 号冲剂的质量控制。临床使用情况显示,本品配合白康搽剂使用,可以较好控制白癜风的发展,临床有效率达 69.81%。

【关键词】 黄芪甲苷;高效液相色谱法;蒸发光散射检测器;白康 I 号冲剂;含量测定

【中图分类号】 R927.2 **【文献标志码】** B doi:10.3969/j.issn.1672-271X.2013.04.024

白康 I 号冲剂由黄芪、首乌等八味药材组成,具有滋补肝肾,活血化瘀的功能,主要用于治疗白癜风。该品种长期作为医院科研制剂使用,在临床上取得了较好的效果。为了更好地控制产品质量,本文分析选择其君药黄芪作为研究指标,拟对其有效成分黄芪甲苷进行系统的研究。黄芪甲苷为紫外末端吸收的物质,用紫外分光光度法检测困难,运用高效液相色谱法配蒸发光散射检测法(HPLC-ESLD)进行黄芪甲苷的检测已多有报道^[1-3],因此本文采用 HPLC-ESLD 法进行检测。实验结果表明该法具有准确度高,简便快捷,干扰少,重现性好等特点,可用于白康 I 号冲剂的质量控制。

1 材料与方法

1.1 仪器 高效液相色谱仪(岛津 LC-20AB 日本),蒸发光散射检测器(PL-ELS 2100 型),电子分析天平(梅特勒-托利多 ML104 型,精确度为万分之一)。所用试剂中甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,实验用水为去离子水。

1.2 药品 白康 I 号冲剂(南京军区机关医院提供,批号:20120301,20120302,20120303),黄芪甲苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号:0781-9908)。

1.3 方法

1.3.1 色谱条件 色谱柱:Dubhe C18(250 mm × 4.6 mm);柱温:30 ℃;流动相:甲醇-水溶液(83:17);流速:1.0 ml/min;蒸发温度为 90 ℃,散射温度为 60 ℃,气体流量:1.8 SLPM;理论塔板数:以黄芪甲苷峰计不低于 10 000。

1.3.2 供试品溶液 取白康 I 号冲剂约 4 g 研细,精密称定后置索氏提取器中,加甲醇 40 ml 冷浸过夜,再加甲醇适量回流 4 h,合并回收甲醇并浓缩至干,再加水 10 ml 微热使溶解,用水饱和的正丁醇振摇提取 3 次,每次 20 ml,合并正丁醇提取液;用氨试液洗涤 2 次,每次 20 ml,弃去氨液。将正丁醇液蒸干,加水 3~5 ml 使溶解,放冷,通过 D101 型大孔吸附树脂柱(内径 1.5 cm,长 12 cm),以水 50 ml 洗脱,弃去水液;再用 40% 乙醇 30 ml 洗脱,弃去 40% 乙醇洗脱液;继用 70% 乙醇 50 ml 洗脱,收集洗脱液,蒸干,用甲醇溶解并转移至 2 ml 量瓶内,加甲醇至刻度摇匀,即得。再以 0.45 μm 微孔滤膜滤过,待进样。

1.3.3 不含黄芪的阴性样品溶液 取阴性样品(不含黄芪)约 4 g 精密称定,按 1.3.2 项制备得阴性样品液。进样 10 μl,按上述色谱条件测定。

1.3.4 标准曲线制备 取黄芪甲苷对照品 8 mg 精密称定,置 10 ml 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀制得 0.8202 mg/ml 的黄芪甲苷标准储备液。精密量取上述溶液适量以甲醇倍比稀释得浓度为 0.0513、0.1026、0.2051、0.4101、0.8202 mg/ml 的标准曲线溶液,分别吸取上述溶液各 10 μl,注入液相色谱仪测定(重复 2 次)。

1.3.5 方法学考验 以 0.1026 mg/ml 的黄芪甲苷标准溶液为测试样品,连续进样 6 针考验精密度;以(批号 20120301)供试品溶液每 2 h 进样 1 次,共进 5 次,考验稳定性;以白康 I 号冲剂(批号 20120303)精密称定 6 份各 4 g,按 1.3.2 项平行制备样品液,进行重复性考验;另称取同批号白康 I 号冲剂 6 份,每份 2 g,两份 1 组,共 3 组,每组分别加入黄芪甲苷标准液(0.1026 mg/ml)0.85、0.90、0.95

ml, 进行回收实验; 分别取不同批号的白康 I 号冲剂 4 g, 及取不同批号的药材粗粉 4.0 g, 按 1.3.2 项制备供试品溶液, 按上述色谱条件进行实际测定。

2 结果

2.1 液相色谱结果 结果见图 1。由图谱可知在大约 7 min 处无吸收峰出现, 即阴性样品在黄芪甲苷峰相应位置无干扰。

2.2 黄芪甲苷标准曲线 以峰面积的对数值为纵坐标 ($Y = \ln A$), 以进样量的对数值为横坐标 ($X = \ln Q$), 绘制标准曲线, 得线性回归方程为 $Y = 1.4847X + 11.806$, 相关系数 (r) = 0.9996, 线性范围为 0.0513 ~ 0.8202 mg/ml, 线性较好。

2.3 方法学考验 相对标准误差 (RSD) 为 1.46%, 表明精密度良好。供试品溶液中的黄芪甲苷在 8 h 内稳定, RSD 为 1.61%, 稳定性良好。重复测试, 黄芪甲苷的 RSD 为 2.67%, 重复性良好。黄芪甲苷平均回收率为 97.53%, RSD 为 1.24% (表 1), 表明本法回收良好。白康 I 号冲剂中黄芪甲苷的含量为每袋不少于 0.4 mg, 实测平均为 0.44 mg (表 2); 黄芪甲苷的药材的实测平均含量为 0.0835% (g/g) (表 3)。

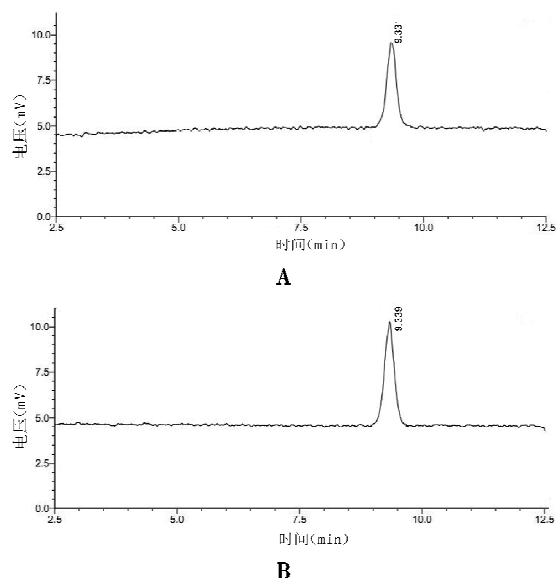


图 1 黄芪甲苷色谱图

A: 黄芪甲苷阴性样品; B: 白康 I 号

3 白康 I 号冲剂的临床应用

选择我院 2011 年 1 月 - 2012 年 12 月门诊白癜风 53 例, 平均年龄 36.7 (17 ~ 66) 岁, 采用白康 I 号冲剂配合白康搽剂 (自制) 进行针对治疗, 3 次/d, 每次 1 包, 搽剂每日涂抹患处 2 次, 3 个月为 1 个疗程,

表 1 HPLC-ESLD 回收实验结果 ($n=6$)

取样量 (g)	样品中黄芪甲苷含量 (μg)	加入对照品 (μg)	实测总量 (μg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
2.0102	90.4590	87.2100	175.0380	97.09	97.53	1.24
2.0354	91.5930	87.2100	174.8650	95.70		
2.0635	92.8575	92.3400	185.8530	100.71		
2.0223	91.0035	92.3400	181.5820	98.06		
2.0321	91.4445	97.4700	186.4710	97.33		
2.0289	91.3005	97.4700	185.3720	96.28		

表 2 实际测定结果 (mg, $n=6$)

批号	含量	平均含量	三批平均含量
20120301	0.40 0.47	0.44	0.44
20120302	0.42 0.49		
20120303	0.41 0.43	0.43	

表 3 药材中黄芪甲苷的实际测定 ($n=3$)

序号	称样量 (g)	含量 (g/g, %)
1	4.0026	0.0802
2	3.9993	0.0871
3	4.0002	0.0831

3 个疗程后观察治疗效果。按照疗效评定标准^[5] (痊愈: 白斑全部消失, 恢复正常肤色; 显效: 白斑部分消退或缩小, 恢复正常肤色的面积占皮损面积大于 50%; 好转: 白斑部分消退或缩小; 无效: 白斑无色素再生或范围扩大) 判定治疗结果。结果显示, 痊愈 2 例 (3.77%), 显效 20 例 (37.74%), 好转 15 例 (28.30%), 无效 16 例 (30.19%), 总有效率达 69.81%。

4 讨论

白康一号冲剂中黄芪甲苷的含量随提取时间的延长而降低。提取 2 h 所制得供试品含量最高但是

(下转第 396 页)

表 2 全程营养干预前后患者血压和血生化指标的变化情况 ($n=156, \bar{x} \pm s$)

内容	营养干预前	营养干预后
收缩压 (mmHg)	159.4 ± 14.3	130.8 ± 8.5 *
舒张压 (mmHg)	103.6 ± 7.2	86.3 ± 6.1 *
三酰甘油 (mmol/L)	2.1 ± 1.1	1.8 ± 0.9 *
总胆固醇 (mmol/L)	5.6 ± 0.9	4.8 ± 0.8 *
餐前血糖 (mmol/L)	9.2 ± 1.8	7.6 ± 1.4 *
餐后 2 h 血糖 (mmol/L)	14.7 ± 1.4	12.3 ± 1.1 *

注:与营养干预前比较, * $P < 0.05$

3 讨论

3.1 全程营养干预有助于患者对营养知识的认知

本结果表明,通过全程营养干预,脑卒中患者对营养知识的认知性有明显提高,认识了每日适宜热量、体质量指数、饮食结构、食物的选择、烹调营养指导、健康生活方式体重控制、合理用餐方法、平衡膳食等对疾病治疗和预后的重要性。营养师在进行动态的营养评价过程中,及时解释并纠正不良饮食习惯,合理调整饮食,提供规范化、个性化、持续化^[4]的全程营养干预,让患者掌握健康的饮食方式,养成良好的饮食习惯,纠正不良生活方式^[5]。对脑卒中的治疗和愈后具有积极意义^[6]。

3.2 全程营养干预成效十分明显 脑卒中患者在不同程度存在躯体功能障碍^[7],患者在发病前都存在不同程度的营养风险,而发病后由疾病所引起的内分泌功能紊乱、神经功能缺损都会进一步加重营养风险^[8],随着高盐饮食、长期吸烟、肥胖、体质量

指数、油腻饮食等不良饮食和生活方式的改善,与患者营养状况密切相关的血压和三酰甘油、总胆固醇、餐前血糖、餐后 2 h 血糖在干预后明显降低。营养干预促进了疾病康复和防止复发,提高了生活质量^[9-10]。

【参考文献】

- [1] Kondrup J, Rasmussen HH, Hamborg O, et al. Nutritional risk screening (NRS 2002): a new method based on an analysis of controlled clinical trials [J]. Clin Nutr, 2003, 22(3): 321-336.
- [2] 蔡东联. 营养师必读 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2011: 597-603.
- [3] 蔡东联. 实用营养师手册 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 597-629.
- [4] 张瞿璐, 胡亮平, 谭昌金, 等. 飞行员椎间盘突出症院内院外健康教育模式的应用效果 [J]. 解放军护理杂志, 2011, 28(5B): 15-16.
- [5] 杨燕玲, 吕飞娟, 江 辉, 等. 电话随访对提高 2 型糖尿病胰岛素治疗依从性的影响 [J]. 东南国防医药, 2011, 13(1): 63-65.
- [6] 王春燕. 营养干预在脑卒中病人中的应用 [J]. 护理实践与研究, 2012, 9(19): 59-60.
- [7] 王晓玲, 翟金盛, 赵迎峰, 等. 中医治疗脑卒中后抑郁的进展 [J]. 东南国防医药, 2012, 14(1): 55-57.
- [8] 杨 蓉, 周沐科, 赵 岩. 脑卒中后营养风险评估研究进展 [J]. 肠外与肠内营养, 2008, 15(1): 56-58.
- [9] 刘 宁, 高尔生, 武俊青. 居民营养知识、态度、行为及影响因素分析 [J]. 中国公共卫生, 2008, 24(4): 485.
- [10] 王晓妮, 刘凤梅, 戴榕娟, 等. 院外健康教育对军队老年患者的康复作用 [J]. 东南国防医药, 2011, 13(1): 72.

(收稿日期: 2013-01-07; 修回日期: 2013-04-01)

(本文编辑: 黄攸生)

(上接第 394 页)

不稳定,这可能与方中其他药材的干扰有关,具体原因有待进一步考察。为了更准确测定其含量,本实验采用提取 4 h 制备供试品。2010 版药典^[4]规定黄芪甲苷的测定用乙腈-水溶液作为流动相,笔者实验发现用甲醇-水溶液 (83:17) 作为流动相得到的黄芪甲苷色谱峰分离度及峰形较好,加之经济方便的考虑,本实验采用甲醇-水溶液作为高效液相色谱含量测定的流动相。

白康 1 号冲剂在临床使用时,配合白康搽剂 (自制),治疗白癜风的总有效率达到 69.81%,证明白康 1 号冲剂是一个具有明确疗效的临床经验方。

【参考文献】

- [1] 赵灵芝, 朱丹妮, 严永清. HPLC-ELSD 法测定黄芪中黄芪甲苷的含量 [J]. 药物分析杂志, 1999, 19(6): 403-405.
- [2] 胡端龙, 姜丽珍, 奚静芳. 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.
- [3] 张 丽, 张爱华, 张晓莺, 等. HPLC-ELSD 法测定仁术健胃颗粒中黄芪甲苷的含量 [J]. 中成药, 2004, 26(12): 1018-1021.
- [4] 中华人民共和国药典 2010 版 (一部) [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 1283-1285.
- [5] 中国中西医结合学会皮肤性病专业委员会色素病学组. 白癜风临床分型及疗效标准 (2003 年修订稿) [J]. 中华皮肤科杂志, 2004, 37(7): 440.

(收稿日期: 2013-06-03)

(本文编辑: 张仲书)