

RP-HPLC 测定地黄饮子配方颗粒中马钱苷的含量

赖飞娥^{1*}, 韦 玮²

(1. 广西药科学校, 广西南宁 530023; 2. 广西中医学院, 广西南宁 530001)

[摘要] 目的: 建立地黄饮子配方颗粒中马钱苷的含量测定方法。方法: 采用反相高效液相色谱法测定含量。色谱柱为 Hypersil GOLD C₁₈(5 μm, 4.6 mm × 250 mm); 流动相为乙腈-水(11: 89); 检测波长 236 nm; 流速 1.0 mL·min⁻¹; 进样体积 10 μL; 柱温为 25 °C。结果: 马钱苷的检测浓度线性范围为 0.080 6~ 1.612 0 μg($r = 0.999 9$, $n = 5$); 平均加样回收率为 100.36% (RSD = 1.52%, $n = 6$)。结论: 该法简便、快速、准确、灵敏、重现性好, 可用于地黄饮子配方颗粒的含量测定。

[关键词] 反相高效液相色谱法; 地黄饮子配方颗粒; 马钱苷

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)12-0028-02

地黄饮子配方颗粒由熟地黄、巴戟天、山茱萸等 12 味药组成, 具补肾益精, 宁心开窍之功效, 临床主要用于暗瘵, 肾虚弱厥逆, 语声不出, 足废不用等症。方中山茱萸(*Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.) 具有补益肝肾, 涩精固脱之功效, 马钱苷为其主要有效成分, 具有显著增强机体免疫功能等作用, 与组方的功效相一致。近几年对山茱萸药材中马钱苷含量测定方法已有文献报道^[1-4], 但对地黄饮子配方颗粒中马钱苷的含量测定却未见报道。本文采用反相高效液相色谱法对方中马钱苷进行含量测定, 该方法准确、简便、易行, 可以作为地黄饮子配方颗粒的质量控制标准。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪(Agilent 1100 系列四元梯度泵, G1313A ALS 自动进样器, G1315B DAD 二极管阵列检测器, Agilent Chemstation 色谱数据工作站); GR-202 分析天平(日本); CREST 超声波处理器(美国)。

乙腈为色谱纯(Merck), 水为高纯水, 其他试剂均为分析纯; 马钱苷(中国药品生物制品检定所, 111640-200503); 地黄饮子配方颗粒从医药公司购买(批号: A070217-01, 070412-01, 070805-01)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适应性

色谱柱: Hypersil

GOLD C₁₈(5 μm, 4.6 mm × 250 mm); 流动相: 乙腈-水(11: 89); 检测波长: 236 nm; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 进样体积: 10 μL; 柱温: 25 °C。理论塔板数按马钱苷计算大于 4 000, 分离度大于 1.5。

2.2 对照品溶液的配制

精密称取马钱苷对照品适量, 加稀乙醇制成每 1 mL 含 40 μg 的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的配制

取地黄饮子配方颗粒样品(A070217-01) 适量, 研细, 取细粉约 1.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入稀乙醇 50 mL, 称重, 超声提取(250 W 50 KHz) 30 min, 放冷, 用稀乙醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 阴性样品溶液的配制

按处方比例及生产工艺, 自制缺山茱萸药材的阴性样品, 按“2.3”项下方法制备阴性样品溶液。

2.5 测定方法

分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液及阴性样品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 按“2.1”项下的色谱条件测定, 结果在供试品中马钱苷与对照品色谱峰保留时间一致, 分离度大于 1.5, 达到基线分离。阴性样品色谱中与马钱苷峰相应的保留时间处无吸收峰, 表明处方中其它颗粒的成分对测定无干扰。见图 1~ 3。

2.6 线性关系的考察

精密称取马钱苷对照品 20.15 mg, 置 50 mL 的量瓶中, 加稀乙醇使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得; 精密量取对照品溶液 0.2 mL, 0.5 mL, 1.0 mL, 2.0 mL, 4.0 mL, 分别置 10 mL 的量瓶中, 加稀乙醇至刻度, 摇匀, 即得。按上述色谱条件, 分别进样 10 μL, 测定。以对照品进样量为横坐标(X), 峰面积积分为纵坐标(Y) 绘制标准曲线,

[收稿日期] 2009-03-06

[通讯作者] * 赖飞娥, Tel: (0771) 5610360; E-mail: 67536864@qq.com

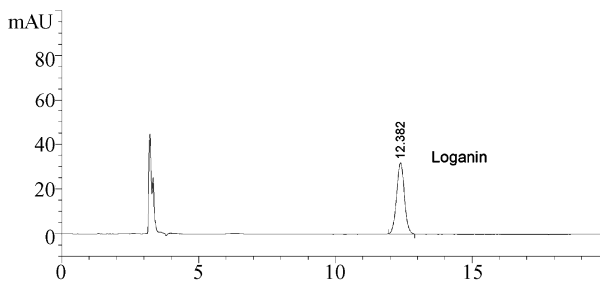


图 1 马钱苷对照品色谱图

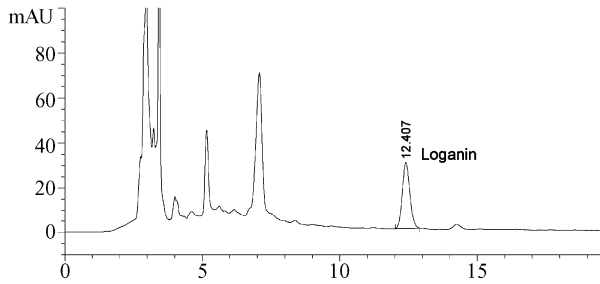


图 2 地黄饮子配方颗粒样品色谱图

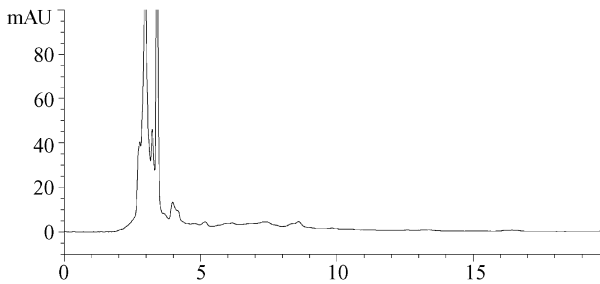


图 3 阴性样品色谱图

得回归方程为 $Y = 1.59 \times 10^3 X - 19.8$, $r = 0.9999$ ($n = 5$)。线性范围为 $0.0806 \sim 1.6120 \mu\text{g}$ 。

2.7 精密度试验 精密吸取上述对照品溶液,按上述色谱条件连续进样 5 次,测定峰面积, RSD 为 0.20%,表明精密度良好。

2.8 重复性试验 取地黄饮子配方颗粒样品(A070217-01),按“2.3”项下方法制备 6 份供试品溶液,分别进样,测定峰面积, RSD 为 0.68%,表明此方法重复性良好。

2.9 稳定性试验 取同一批号的地黄饮子配方颗粒(A070217-01)供试品溶液,分别在 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 各进样 10 μL ,测定马钱苷的峰面积。结果 RSD 为 0.55%,表明马钱苷在 24 h 内稳定。

2.10 加样回收率试验 取已知含量的地黄饮子配方颗粒(A070217-01)细粉 6 份,精密称定,分别加入一定量的对照品溶液,按“2.3”项下方法制备,进样测定,计算加样回收率。结果平均回收率为 100.36%, RSD= 1.52% ($n = 6$)。结果见表 1。

2.11 样品的测定 取地黄饮子配方颗粒 3 批(批

号:A070217-01、070412-01、070805-01),按“2.3”项下方法制备供试品溶液。分别吸取供试品溶液和对照品溶液各 10 μL ,在上述色谱条件下进样,测定峰面积,计算马钱苷的含量。3 批地黄饮子配方颗粒的含量测定结果分别为: 1.23, 1.41, 0.98($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)。

表 1 加样回收率试验 ($n = 6$)

样品号	取样量 (g)	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	0.744 1	0.912 4	0.806 0	1.705 8	98.44		
2	0.753 6	0.924 1	0.806 0	1.741 1	100.36		
3	0.770 7	0.945 0	0.806 0	1.759 7	101.07		
4	0.784 4	0.961 8	0.806 0	1.778 3	101.30	100.36	1.52
5	0.745 6	0.914 3	0.806 0	1.707 1	98.37		
6	0.722 4	0.885 8	0.806 0	1.704 8	101.62		

3 讨论

色谱条件的选择参考文献^[5-8],流动相曾采用四氢呋喃-乙腈-甲醇-0.05%磷酸溶液(1:6:5:88)和不同比例的乙腈-水。结果表明,本文采用的流动相色谱峰形佳,理论塔板数高,分离好,且出峰保留时间合适。

本文考察了超声处理、加热回流和冷浸处理 3 种提取方法,结果 3 种提取方法中静置处理所得的马钱苷含量较低,而超声处理和加热回流所得的马钱苷含量相近,因超声处理较方便,故本文采用超声处理方法提取。试验中还比较了不同超声时间(15 min, 30 min, 60 min),不同比例的甲醇和乙醇;不同溶剂用量(25 mL, 50 mL, 100 mL)的提取率,测定结果表明马钱苷用 50 mL 稀乙醇超声 30 min 即可提取完全,且经济和环保。

[参考文献]

- [1] 晏桂敏,林燕,孙静芸,等.山茱萸中马钱苷含量测定的样品处理方法改进[J].中国药业,2005,14(10):38-39.
- [2] 杜小伟,范力力,王京辉,等.不同产地制山茱萸中马钱苷的含量测定[J].中国中药杂志,2006,31(17):1446-1447.
- [3] 汤继辉,胡容峰,怀素丽.山茱萸中马钱苷大鼠体内药动学研究[J].中国实验方剂学杂志,2008,14(1):27-29.
- [4] 宋平顺,王兰霞,丁永辉.HPLC测定山茱萸不同炮制品中马钱苷的含量[J].中成药,2008,30(5):707-708.
- [5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[S].一部,北京:化学工业出版社,2005,494-495.
- [6] 潘云雪,诸葛陇,陈勇.RP-HPLC法测定杞菊口服液 中马钱苷的含量[J].中国药师,2006,9(11):1016-1017.
- [7] 张红波,李海州,任启明,等.金匱肾气丸中马钱苷的含量测定方法[J].中国药事,2007,21(9):747-748.
- [8] 李成网.高效液相色谱法测定左归丸中马钱苷含量[J].国药导报,2007,26(4):419-420.