

地榆槐角丸中槐角苷的含量测定

马 群^{1*}, 卢建秋¹, 杜 菁², 邱 落², 张 薇²

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102; 2. 北京同仁堂股份有限公司科学研究所, 北京 100011)

[摘要] 目的: 建立地榆槐角丸中槐角苷的 HPLC 分离及测定方法。方法: 色谱柱: Zorbax C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-乙腈-0.1% 磷酸水溶液 (11: 10: 79), 检测波长: 260 nm, 柱温: 40 °C, 流速: 0.8 mL·min⁻¹; 结果: 槐角苷回收率 99.21%, RSD= 0.62%。结论: 该方法简便、快速、灵敏、准确, 可作为地榆槐角丸的质量控制方法。

[关键词] 地榆槐角丸; 槐角苷; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)08-0012-02

HPLC Determination of sophoricoside in Diyuhuaijiao Pills

MA Qun^{1*}, LU Jian-qiu¹, DU Jing², QIU Luo², ZHANG Wei²

(1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China;

2. Research Institute of Beijing Tongrentang Co., Ltd, Beijing 100011, China)

[Abstract] **Objective:** To establish an HPLC method for determination of sophoricoside in Diyuhuaijiao pills. **Method:** Zorbax C₁₈ (4.6 × 150 mm, 5 μm) column was adopted with methanol-acetonitrile-0.1% phosphoric acid (11: 10: 79) as the mobile phase at 0.8 mL·min⁻¹. The detection wave length was 260 nm and column temperature was 40 °C. **Results:** The average recovery was 99.21% and the relative standard deviation (RSD) was 0.62%. **Conclusion:** The method is simple, fast, sensitive and can be used for the quality control of Diyuhuaijiao pills.

[Key words] Diyuhuaijiao pills; sophoricoside; HPLC

地榆槐角丸^[1]由地榆、槐花、槐角等 12 味药组成, 用于治疗脏腑实热, 大肠火盛引起的肠风便血, 痔疮漏疮, 湿热便秘, 肛门肿痛等病证。经文献查阅, 未发现对地榆槐角丸中成分进行质量控制的报道, 我们采用高效液相色谱法制定地榆槐角丸中槐角苷的含量测定方法以控制制剂质量。

1 仪器与材料

1.1 仪器 Waters 公司 2695 高效液相色谱仪, empower 液相色谱工作站, 2996 检测器。

1.2 药品试剂 地榆槐角丸由北京同仁堂股份公司制药厂提供 (批号: 5010023、2010455、2010776、2010614、5013100、5010155), 甲醇、乙腈: 色谱纯 (天

津四友

生物学技术开发公司), 水: 纯净水, 其余试剂均为分析纯, 对照品: 槐角苷 (中国药品生物制品检定所提供, 批号 111695-200501, 含量测定用)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: 十八烷基硅烷键合硅胶 Zorbax C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-乙腈-0.1% 磷酸水溶液 (11: 10: 79); 检测波长: 260 nm; 柱温: 40 °C; 流速: 0.8 mL·min⁻¹; 理论板数按槐角苷峰计算应不少于 3000。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取槐角苷对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含槐角苷 25 μg 的溶液, 用微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 即得。精密吸取 5 μL 进样测定, 外标法计算槐角苷含量。

2.3 供试品溶液的制备 取本品约 0.5 g, 剪碎, 精密称定, 至具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定

[收稿日期] 2008-10-29

[通讯作者] * 马 群, Tel: (010) 84738658; E-mail: maqun99@163.com

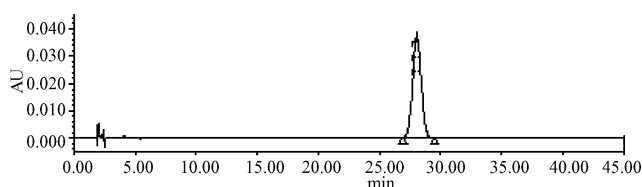


图 1 槐角苷对照品色谱图

重量, 超声处理 45 min(功率 250 W, 频率 40 kHz), 取出, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 作为供试品溶液。用微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 即得。

精密吸取地榆槐角丸供试品溶液 5 μL 进样, 测定, 外标法计算槐角苷含量。

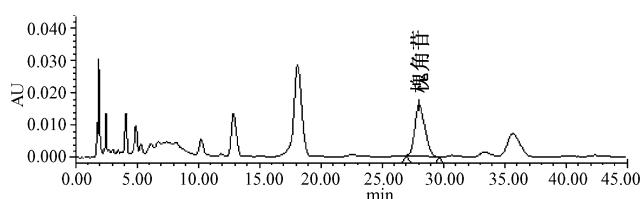


图 2 地榆槐角丸液相色谱图

2.4 空白试验 按处方中药味的比例, 自配不含槐角的群药, 按其工艺制成空白制剂, 再按供试品溶液制备方法制备并测定, 结果空白溶液在槐角苷对照品相同保留时间处未显色谱峰, 故认为无干扰。

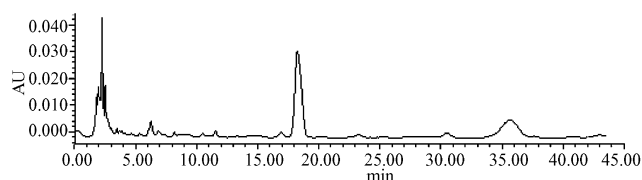


图 3 地榆槐角丸空白样品液相色谱图

2.5 线性关系考察 精密吸取槐角苷对照品溶液 (0.041 2 mg·mL⁻¹) 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 分别精密吸取 10 μL, 按上述色谱条件测定峰面积, 以峰面积积分值为纵坐标, 槐角苷进样量为横坐标绘制标准曲线并计算得回归方程: $Y = 7.33 \times 10^7 X + 2.72 \times 10^4$ ($n = 6, r = 0.9999$)。结果表明, 槐角苷在 0.041 2~ 0.247 μg 范围内线性良好。

2.6 稳定性试验 精密吸取地榆槐角丸同一批号 (5010023) 供试品溶液 5 μL, 每隔一定时间进样一次, 观察供试品溶液稳定性, 相对标准偏差 RSD = 0.67% ($n = 6$), 试验结果表明, 供试品溶液制备后, 24 h 内基本稳定。

2.7 重复性试验 按上述色谱条件对同一批样品

(5010023) 6 份, 进行测定, 求得槐角苷平均含量 2.386 2 mg·g⁻¹, 相对标准偏差分别为 RSD = 0.63% ($n = 6$)。

2.8 回收率试验 采用加样回收法, 精密称取已知含量的同一批号地榆槐角丸 (批号 5010023, 槐角苷含量 2.386 2 mg·g⁻¹) 的样品 0.25 g, 平行 6 份, 分别精密加入槐角苷对照品溶液 (0.206 0 mg·mL⁻¹) 3.0 mL 按上述条件操作, 以下式计算回收率, 测定结果见表 1。

表 1 槐角苷回收率试验

样品号	称样量 (g)	样品中含量 (mg)	测出槐角苷总量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.250 6	0.598 6	1.210 1	98.95	99.21	0.62
2	0.249 6	0.596 2	1.206 2	98.70		
3	0.250 1	0.597 4	1.215 6	100.04		
4	0.251 9	0.601 7	1.215 5	99.33		
5	0.249 0	0.594 8	1.203 3	98.46		
6	0.252 0	0.601 9	1.218 5	99.76		

2.8 样品测定结果 分别取 3 批样品, 依上述色谱条件进行测定, 计算含量, 分别为 21.5~ 24.1 mg/丸。

3 讨论

曾试用甲醇-乙腈-0.1% 磷酸水溶液 (12: 20: 68); 甲醇-乙腈-0.1% 磷酸水溶液 (11: 11: 78); 甲醇-乙腈-0.1% 磷酸水溶液 (10: 11: 79) 为流动相, 结果以甲醇-乙腈-0.1% 磷酸水溶液 (11: 10: 79) 分离最好, 能达到基线分离。

取槐角苷对照品, 在 200~ 400 nm 范围内扫描, 结果在 260 nm 处有最大吸收, 故选择 260 nm 作为检测波长。

参考中国药典^[2], 根据槐角苷的性质, 选择甲醇作为提取溶剂, 进行超声提取和回流两种方法比较, 同时进行了溶剂量的考察, 经计算选择样品量 0.5 g, 甲醇 50 mL, 超声提取作为提取条件; 实验结果表明: 超声提取 45 min 槐角苷含量最高, 故选择超声提取 45 min。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准[S]. 中药成方制剂第一册, 1989: 65.
- [2] 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: 247.