

高效液相色谱法测定六味地黄丸的溶出度

韩玲玲, 胡容峰*
(安徽中医学院, 安徽 合肥 230038)

[摘要] 目的: 测定六味地黄丸中丹皮酚和马钱苷的溶出度。方法: 采用溶出度第三法(小杯法)测定六味地黄丸的溶出度, 以高效液相色谱法测定其浓度。结果: 马钱苷 24 h 的平均累积溶出百分率为 94.42%, 丹皮酚 24 h 平均累积溶出百分率为 68.75%。结论: 该方法准确、可靠, 可同时用于测定六味地黄丸中的两种成分的溶出情况。

[关键词] 高效液相色谱法; 溶出度; 马钱苷; 丹皮酚

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)04-0008-03

Determination of Dissolution of Liuwei Dihuang Wan by HPLC

HAN Ling-ling, HU Rongfeng*
(Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Hefei, Anhui, China, 230038, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the dissolution of Loganin and paeonol of Liuwei Dihuang Wan. **Methods:** The third method was used to determine the dissolution of Liuwei Dihuang Wan. A HPLC method was established for the determination of dissolution of Loganin and paeonol. **Results:** The accumulated release rate of Loganin at 24 hours was 94.42%, The accumulated release rate of paeonol at 24 hours was 68.75%. **Conclusion:** The method is accurate and reliable. It can be used for the determination of dissolution of Liuwei Dihuang Wan.

[Key words] HPLC; dissolution; loganin; paeonol

六味地黄丸收载于 2005 版药典一部, 系常用的滋阴补肾中成药, 由熟地黄、山茱萸、牡丹皮、山药、泽泻、茯苓 6 味药组成, 现行药典无对其溶出考察, 而药物溶出与否直接影响药物的疗效, 为进一步探索其质量标准, 有必要对六味地黄丸的溶出度进行考察。我们以丹皮酚和马钱苷为指标成分, 考察六味地黄丸的溶出情况。

1 仪器与药品

六味地黄丸(040624, 芜湖张恒春药业有限公司), 丹皮酚对照品(paeonol 中国药品生物制品检定所提供, 批号: 0708-9704), 马钱苷对照品(loganin 中国药品生物制品检定所提供, 批号: 111640-200401)

甲醇为色谱纯; Agilent1100 高效液相及工作站, HypersilC₁₈(5 μm, 250 mm × 4.6 mm) 色谱柱, ZRS-8G 智能溶出试验仪(天津大学无线电厂)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 流动相: A 为甲醇 B 为乙腈-0.05% 磷酸溶液(15: 85), 梯度洗脱(见表 1)。柱温 25 °C, 流速: 1.0 ml·min⁻¹, DAD 检测器, 检测波长马钱苷 236 nm、丹皮酚 274 nm。结果表明在此条件下两个成分能与其它成分达到较好的分离, 且理论塔板数均大于 3 000。结果见图 1、2。

表 1 梯度洗脱程序

时间(min)	流速(ml·min ⁻¹)	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0	1.0	0	100
20	1.0	0	100
21	1.0	50	50
35	1.0	50	50
36	1.0	0	100

2.2 对照品溶液的制备 精密称取丹皮酚对照品 4

[收稿日期] 2006-08-01
[基金项目] 安徽省教育厅自然科学基金项目
(2006kj337B)
[通讯作者] * 胡容峰, Tel: (0551) 5169060; E-mail: hurongfeng@163.com

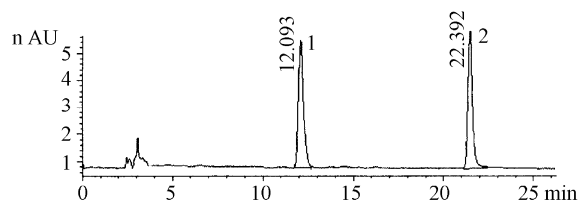


图1 对照品的色谱图
1. 马钱苷; 2. 丹皮酚

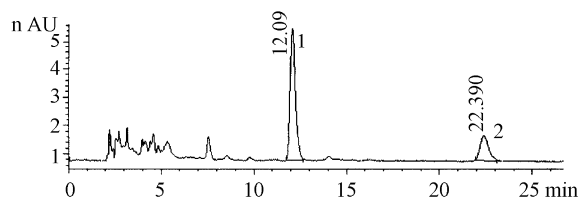


图2 六味地黄丸溶出液的色谱图
1. 马钱苷; 2. 丹皮酚

mg, 马钱苷对照品 3 mg, 分别置于 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度摇匀即得对照品储备液。

2.3 阴性对照液的制备 按照处方比例制备阴性对照液, 进样 20 μ L, 结果见图 3。

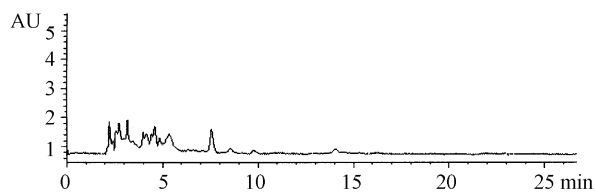


图3 阴性对照色谱图

2.4 标准曲线的绘制 精密量取丹皮酚储备液 1, 3, 5, 7, 8 mL 和马钱苷储备液 1, 3, 5, 6, 7 mL 分别置于 10 mL 量瓶中加甲醇溶解并稀释至刻度, 进样 20 μ L, 测峰面积, 以峰面积 A 为纵坐标, 浓度 C 为横坐标进行线性回归。丹皮酚回归方程为 $A = 22.192C - 5.6513$, $r = 0.9996$, 线性范围为 4.06 μ g/mL ~ 32.48 μ g/mL。马钱苷的回归方程为: $A = 12.77C + 0.2812$, $r = 0.9999$, 线性范围为 3.08 μ g/mL ~ 21.56 μ g/mL。

2.5 精密度试验 分别取浓度为 20.3 μ g/mL 的丹皮酚和 15.4 μ g/mL 的马钱苷对照品连续进样 6 次, 结果: 丹皮酚的 RSD 为 1.35%, 马钱苷的 RSD 为 0.89%。

2.6 稳定性试验 分别取浓度为 20.3 μ g/mL 的丹皮酚和 15.4 μ g/mL 的马钱苷对照品于 0, 1, 2, 4, 8, 12 h 进样测定, 结果: 丹皮酚的 RSD 为 1.57%, 马钱苷的 RSD 为 1.05%。

2.7 加样回收率试验 取已知含量的样品溶液, 分别精密加入丹皮酚和马钱苷对照品适量, 摇匀, 取 20 μ L 进样, 测定峰面积, 计算平均回收率和 RSD%。

结果见表 2、表 3。

表2 丹皮酚加样回收率

加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
3.23	3.14	97.08		
3.23	3.17	98.1		
4.02	3.91	97.24	98.12	1.45
4.02	3.90	97.05		
4.81	4.74	98.48		
4.81	4.85	100.75		

表3 马钱苷加样回收率

加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
2.43	2.50	102.85		
2.43	2.53	104.28		
3.04	3.26	107.33	105.58	1.78
3.04	3.28	107.78		
3.62	3.84	106.15		
3.62	3.81	105.12		

2.8 样品的含量测定 随机取样品 8 丸 6 份, 精密称定, 按《中华人民共和国药典》^[1] 六味地黄丸中丹皮酚样品处理方法项下处理, 在 274 nm 处测定峰面积, 计算含量。另取样品 8 丸 6 份按《中华人民共和国药典》^[1] 六味地黄丸中马钱苷样品处理项下处理, 在 236 nm 处测定峰面积, 计算含量。

2.9 溶出度测定 取已知样品含量的样品 8 丸 6 份, 进行实验。按《中华人民共和国药典》(小杯法)^[1], 取脱气人工胃液(无酶) 200 mL 为溶出介质, 恒温 37.0 $^{\circ}$ C, 调节转速 100 r/min, 依法操作, 分别于 2, 4, 6, 12, 24 h 取样 5 mL 用 0.45 μ m 微孔滤膜过滤, 随即补充等量的溶出介质, 取续滤液 20 μ L 进样, 测定峰面积, 求算药物浓度并换算成不同时间的累积溶出百分率, 取平均值, 结果见表 4。马钱苷 T_{50} 为 192 min, 丹皮酚的 T_{50} 为 683 min, 符合中药丸剂舒缓的要求。

表4 平均累积溶出百分率

取样时间(h)	马钱苷平均累积溶出(%)	丹皮酚平均累积溶出(%)
2	47.53	27.57
4	62.45	36.72
6	71.80	45.97
12	89.74	52.69
24	94.42	68.75

2.10 检测波长的确定 精密称取丹皮酚对照品适量,用甲醇溶解,于 200~ 400 nm 之间扫描,结果丹皮酚在 274 nm 波长处有最大吸收,故选择 274 nm 为丹皮酚的测定波长。精密称取马钱苷对照品适量,用甲醇溶解,于 200~ 400 nm 之间扫描,结果马钱苷在 236 nm 波长处有最大吸收,故选择 236 nm 为马钱苷的测定波长。

3 讨论

六味地黄丸以往有报道用紫外分光光度法测定丹皮酚的溶出度,但其为中药复方,成分复杂,用紫外分光光度法测定存在一定的干扰,本实验采用高效液相色谱法,可完全排除这种干扰,是一种准确度高,专属性强的方法,且本方法同时测定其中两味药材的有效成分,更能反映溶出情况,可用于六味地黄丸溶出度的测定。

药物的溶出与否直接影响药物的疗效,建议通过实验对六味地黄丸等中药丸剂逐步建立统一的溶出度标准,以保证制剂的临床疗效。

丹皮酚的溶出度较低,可能与它的脂溶性有关,有待对其溶出进行进一步的研究。

[参考文献]

- [1] 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. 401-402.
- [2] 程荷珍, 王桂红, 王萍. 六味地黄丸(浓缩丸)溶出度的测定[J]. 中成药, 2001, 23(5): 380-381.
- [3] 苏瑞强, 何煜, 王瑞成, 等. 超微粉碎技术提高六味地黄丸(水蜜丸)溶出度的研究[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(7): 511-512.