

RP-HPLC法测定左归丸中梓醇的含量^Δ

孙琳林^{1*},任岩海²,陈海玲³,卢林¹,刘艳秋¹(1.牡丹江医学院红旗医院中西医结合科,黑龙江牡丹江 157011;2.牡丹江医学院红旗医院脑外科,黑龙江牡丹江 157011;3.杭州市中医院老年病科,杭州 310007)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)04-0374-02

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.04.30

摘要 目的:建立测定左归丸中梓醇含量的方法。方法:采用反相高效液相色谱法。色谱柱为Eclipse XDB-C₁₈柱,流动相为乙腈-水(0.7:99.3, V/V),流速为1.0 ml/min,柱温为25℃,检测波长为210 nm,进样量为5 μl。结果:梓醇检测质量浓度在0.006 7~0.216 0 mg/ml范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.999 6$);平均回收率为98.5%,RSD=1.72%($n=5$)。结论:该方法快速、简便,结果准确、可靠,可以用于左归丸中梓醇的含量测定。

关键词 左归丸;梓醇;高效液相色谱法;含量测定

Content Determination of Catalpol in Zuogui Pills by HPLC

SUN Lin-lin¹, REN Yan-hai², CHEN Hai-ling³, LU Lin¹, LIU Yan-qiu¹(1.Dept. of Integrated Chinese and Western Medicine, Hongqi Hospital of Mudanjiang Medical College, Heilongjiang Mudanjiang 157011, China; 2.Dept. of Cerebral Surgery, Hongqi Hospital of Mudanjiang Medical College, Heilongjiang Mudanjiang 157011, China; 3.Dept. of Geriatrics, Hangzhou Hospital of TCM, Hangzhou 310007, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To develop a method for the content determination of catalpol in Zuogui pills. METHODS: RP-HPLC system was used. The determination was performed on Eclipse XDB-C₁₈ column with acetonitrile-water (0.7:99.3, V/V) as mobile phase at the flow rate of 1.0 ml/min. Column temperature was 25℃. The detection wavelength was set at 210 nm and injection volume was 5 μl. RESULTS: The linear range of catalpol was 0.006 7-0.216 0 mg/ml ($r=0.9996$) with an average recoveries of 98.5% (RSD=1.72%, $n=5$). CONCLUSION: The method is rapid, simple, accurate and reliable. It can be used for the content determination of catalpol in Zuogui pills.

KEY WORDS Zuogui pills; Catalpol; HPLC; Content determination

左归丸由熟地(熟地黄)、山茱萸、山药、枸杞、川牛膝、鹿角胶、龟板胶、菟丝子8味中药组方而成,具有滋阴补肾、填精益髓的功用,可用于治疗“真阴肾水不足”、“精髓内亏”所致的虚损表现。方中重用熟地黄,为君药,而梓醇为地黄主要有效成分之一,通常以其作为地黄不同炮制品或含地黄制剂的质量控制指标^[1-3]。目前,尚未见以梓醇为质量控制指标进行左归丸质量控制方面研究的文献报道。因此,本试验采用反相高效液相色谱(RP-HPLC)法测定左归丸中梓醇的含量,为左归丸的质量控制提供一种高效、快速、稳定的检测方法。

1 材料

Agilent 1100型HPLC仪,包括G1379A真空脱气泵、G1311A四元泵、G1313A自动进样器、G1316A柱温箱、G1315B DAD检测器(美国安捷伦公司);KQ-500B型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

^Δ黑龙江省中医药科研课题(No.ZHY10-W70);黑龙江省卫生厅科研课题(No.2011-299);杭州市科技发展计划项目(No.20100633B22)

*主治医师,博士。研究方向:方剂配伍及复方药理。电话:0453-6582800-8056。E-mail: sunlinlin999@yahoo.com.cn

左归丸(河南省宛西制药股份有限公司,批号:071003、071004、071005);梓醇对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110808-200508);乙腈(美国Fisher公司,色谱纯);水(市售娃哈哈纯净水)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Eclipse XDB-C₁₈柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(0.7:99.3, V/V);流速:1.0 ml/min;柱温:25℃;检测波长:210 nm;进样量:5 μl。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液的制备 取梓醇对照品适量,精密称定,加流动相制成每1 ml含0.216 0 mg的溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品适量,研细,取0.2 g,精密称定,置于50 ml具塞三角瓶内,精密加入25 ml甲醇,称质量,超声(功率:50 W,频率:40 kHz)提取30 min,放冷,甲醇补足失质量,滤过,弃去初滤液,精密吸取续滤液10 ml,蒸干,流动相溶解,置于10 ml量瓶内,并定容至刻度,摇匀,0.45 μm微孔滤膜滤过,即得。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 根据处方组成,取除熟地外的

其余药味,按制剂工艺制备,制得缺熟地的阴性样品粉末,按“2.1.2”项下方法处理和制备,即得。

取上述3种溶液,按“2.1”项下色谱条件进样,色谱见图1。

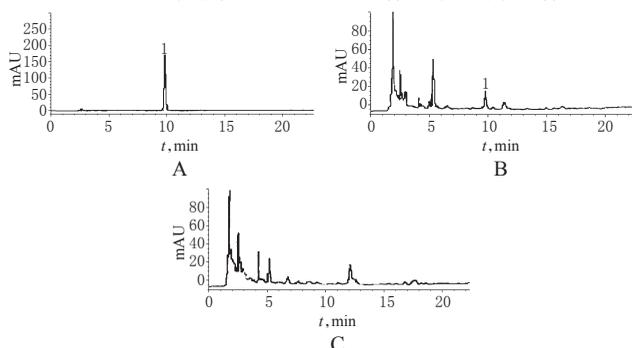


图1 高效液相色谱图

A.对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.梓醇

Fig 1 HPLC chromatograms

A substance control; B. test sample; C. negative sample; 1. catalpol

2.3 线性关系考察

精密吸取“2.1.1”项下对照品溶液适量,稀释0.2、4、8、16、32倍,分别进样5 μl,按“2.1”项下色谱条件进样分析。以峰面积为纵坐标(y),质量浓度为横坐标(x, mg/ml)进行线性回归,得回归方程 $y=20.614 \times 10^3 x - 1.7841$ ($r=0.9996$)。结果表明,梓醇检测质量浓度在0.0067~0.2160 mg/ml范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.4 精密度试验

取“2.3”项下稀释4倍的对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样6次,每次进样5 μl。结果,峰面积的RSD=0.95%,表明本法有较好的精密度。

2.5 稳定性试验

取“2.2.2”项下的供试品溶液,分别放置0.2、4、6、8、10、12、24 h后按“2.1”项下色谱条件进样分析,每次进样5 μl。结果,峰面积的RSD=1.58%,表明供试品溶液在24 h内稳定。

2.6 重复性试验

取某批样品适量,共6份,按“2.2.2”项下供试品溶液的制备方法进行制备,按“2.1”项下色谱条件进样分析,每次进样5 μl。结果,样品中梓醇含量的RSD=2.21%,表明本法的重复性较好。

2.7 加样回收率试验

取已知含量的样品约0.1 g,共5份,精密称定,分别精密加入“2.2.1”项下的对照品溶液1 ml,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算回收率,结果见表1。

2.8 样品含量测定

取上述3批样品适量,按照“2.2.2”项下供试品溶液的制备方法进行制备,并按“2.1”项下色谱条件进样分析,每次进样5 μl,测定样品中的含量,结果见表2。

表1 加样回收率试验结果(n=5)

Tab 1 Results of recovery tests(n=5)

序号	样品含量, μg	加入量, μg	测得量, μg	回收率, %	平均回收率, %	RSD, %
1	50.6	54	103.7	99.1		
2	50.3	54	102.8	98.6		
3	50.9	54	101.2	96.5	98.5	1.72
4	50.7	54	105.1	101.0		
5	50.9	54	102.3	97.5		

表2 样品含量测定结果(mg, n=3)

Tab 2 Content determination of samples(mg, n=3)

样品批号	每克含梓醇的量
071003	1.0125
071004	1.1316
071005	1.0628

3 讨论

左归丸是临床上疗效比较确切的中药复方制剂,其药味组成相对较多,成分复杂,文献关于其质量控制方面的报道鲜见。本研究以其君药熟地所含的主要有效成分——梓醇为质量控制指标,借助RP-HPLC法,建立了一种快速、简便、结果准确、可靠的分析方法,为左归丸的质量控制提供了一定的理论依据。

3.1 提取方法的选择

分别考察了冷浸法、超声提取法和热提取法,并考察了不同提取溶剂(水、甲醇、乙醇)、提取时间(20、30、45、60 min)、溶剂体积(25、50、75 ml)。结果,得到最优化的提取方法为甲醇25 ml,超声提取30 min。

3.2 流动相的选择

考察了甲醇-水、乙腈-水体系作为流动相对分离的影响。结果,乙腈-水所得色谱中色谱峰分离度和峰形均较好,因而确定以乙腈-水体系为流动相^[4-5]。

3.3 检测波长的选择

利用DAD检测器在200~400 nm扫描其吸收光谱,发现梓醇在210 nm波长处有最大吸收,故选择其为测定波长。

参考文献

- [1] 汪程远,张浩,孟莉,等.HPLC测定地黄及其制剂中梓醇的含量[J].华西药学期刊,2008,18(2):135.
- [2] 李计萍,马华,王跃生,等.鲜地黄与干地黄中梓醇、糖类成分含量的比较[J].中国药学期刊,2001,36(5):300.
- [3] 刘芳,余绍玲.地黄不同炮制品中梓醇含量比较[J].中国药房,2003,14(6):378.
- [4] 邓瑜.HPLC法测定百合固金丸中梓醇的含量[J].中医药导报,2009,15(2):75.
- [5] 万永臻,张玉萍.HPLC法测定六味地黄丸中梓醇的含量[J].现代中药研究与实践,2010,24(4):73.

(收稿日期:2012-04-01 修回日期:2012-04-23)