

六味地黄颗粒中马钱苷含量测定的研究

王裴芳¹, 谢丽², 许保海^{1*}

(1. 北京积水潭医院, 北京 100035; 2. 北京友谊医院, 北京 100051)

[摘要] 目的: 建立六味地黄颗粒的含量测定方法。方法: 采用 C₁₈ 柱, 乙腈-甲醇-四氢呋喃-0.05% 磷酸溶液(8:4:1:87) 为流动相; 检测波长为 236 nm; 柱温 40℃, 以马钱苷为对照品, 外标法定量。结果: 马钱苷对照品在 0.096 4~1.156 8 μg 范围内线性关系良好; 马钱苷平均回收率为 98.20%, RSD 为 1.08%。结论: 该方法简便, 快速准确, 可作为该制剂的质量控制方法。

[关键词] 六味地黄颗粒; 马钱苷; 高效液相色谱

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)08-0052-02

六味地黄颗粒收载于《中国药典》2005 年版, 为常用中成药, 方中山茱萸为主要药, 山茱萸中马钱苷属环烯醚萜苷, 最新研究表明马钱苷在预防心血管疾病方面有十分有效的作用, 另外还具有明显抑制小鼠淋巴细胞转化、白细胞介素-2(IL-2) 的产生和淋巴因子激活的杀伤细胞(LAK) 生成作用。因此测定六味地黄颗粒中马钱苷含量可以很好控制药品质量。

1 仪器与试药

高效液相色谱仪 岛津 Class-vp。马钱苷对照品(批号 111640-200401, 中国药品生物制品检定所); 六味地黄颗粒为市售样品(批号 083102; 084500)。乙腈、四氢呋喃 为色谱纯; 磷酸、甲醇为优级纯; 水为超纯水。

2 色谱条件

色谱柱 C₁₈Inertsil ODS-3 (4.6 mm ×250 mm, 5 μm)。流动相乙腈-甲醇-四氢呋喃-0.05% 磷酸溶液(8:4:1:87); 流速 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长为 236 nm; 柱温 40℃。

3 实验方法与结果

3.1 供试溶液的制备

3.1.1 对照品溶液 精密称取马钱苷对照品适量, 加 50% 甲醇制成每 1 mL 含 40 μg 的溶液, 即得。

3.1.2 供试品溶液的制备 取装量差异项下的本

品 1 g, 研细, 取 0.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 25 mL, 密塞, 称定质量, 加热回流 1 h, 放冷, 再称定质量, 用 50% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 10 mL, 置已处理好的中性氧化铝柱(100~200 目, 4 g, 内径 1 cm, 干法装柱) 上, 用 40% 甲醇 50 mL 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣加 50% 甲醇适量使溶解, 并转移至 10 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45 μm) 滤过, 取续滤液, 即得。

3.2 空白试验 按处方中药味的比例, 自配不含山茱萸的群药, 按其工艺制成阴性对照, 再按供试品溶液的制备方法制备并测定, 结果空白溶液在与马钱苷对照品相同保留时间处未显色谱峰, 故认为无干扰, 结果见图 1。

3.3 线性关系考察 精密量取马钱苷对照品溶液(0.192 8 mg·mL⁻¹), 分别取 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 分别精密吸取 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 记录峰面积, 以马钱苷对照品进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 其回归方程为 $Y = 1.523 \times 10^7 X - 1.378 \times 10^4$ 相关系数 $r = 0.999 7$, 结果表明, 马钱苷对照品在 0.096 4~1.156 8 μg 线性关系良好。

3.4 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 10 μL, 分别于配制后 0, 6, 16, 24, 36 h, 依法测定, 求得相对标准偏差 RSD 为 1.30%, 结果表明供试品溶液在 36 h 内基本稳定。

3.5 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液, 进样 10 μL, 重复进样 5 次, 求得相对标准偏差 RSD 为

[收稿日期] 2009-12-17

[第一作者] 王裴芳, 药师, 中药鉴别, Tel: 58516688-6563; E-mail: wangpeifang_003@163.com

[通讯作者] 许保海, 副主任药师, 中药鉴别, Tel: 58516553; E-mail: xubaohai@163.com

1.30%。

3.6 重复性试验 对同一批号供试品 5 份进行测定,求得马钱苷相对标准偏差 RSD 为 1.07%。

3.7 回收率试验 采用加样回收法。精密称取已知

含量的同一批号的样品(含量为 $1.085 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) 1.0 g,精密加入马钱苷对照品 50% 甲醇溶液($0.0217 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 25 mL,按正文供试品溶液的制备方法制备及上述色谱条件测定,见表 1。

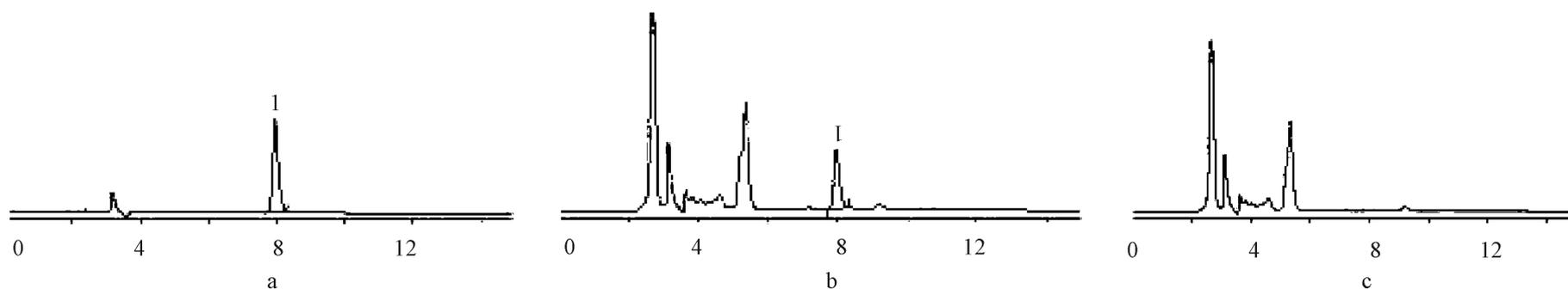


图 1 马钱苷(1)对照品(a),六味地黄颗粒(b)及空白溶液(c) HPLC 图

表 1 马钱苷加样回收率试验

No.	样品量 /g	样品中的马钱苷含量 /mg	马钱苷加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	0.502 1	0.544 5	0.531 4	1.076 2	100.0		
2	0.503 0	0.545 8	0.531 4	1.071 1	98.85		
3	0.504 5	0.547 4	0.531 4	1.058 0	96.09	99.21	1.92
4	0.500 7	0.543 3	0.531 4	1.075 2	100.1		
5	0.502 1	0.544 8	0.531 4	1.081 5	101.0		

3.8 含量测定 按上述方法对其余样品(批号 083102,084500)进行测定,结果分别为 1.0038 , $0.8992 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

4 讨论

实验中曾采用乙腈-水 - 0.05% 磷酸溶液(12 1 87),乙腈-甲醇-四氢呋 - 0.05% 磷酸溶液(8 4 1 87)为流动相,结果显示后者的分离效果更为理想。

在中成药六味地黄颗粒的质量标准研究中,原国家标准中采用山茱萸中的熊果酸作为指标成分,利用薄层扫描法进行含量测定。由于熊果酸并非山茱萸的特征成分,并且含量较低,加之薄层色谱扫描法存在的重复性差等缺陷,使得该方法对六味地黄

颗粒的质量控制缺乏有效性。针对这些问题,本实验根据六味地黄颗粒组方特点,选用马钱苷作为含量测定用对照品、采用高效液相色谱法进行检测。

结果显示采用高效液相色谱法测定马钱苷的含量,方法更为准确,简便,可作为该制剂的质量控制方法。

[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,2005:633.
- [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):1466.

[责任编辑 顾雪竹]