

HPLC 同时测定地黄中梓醇与毛蕊花糖苷的含量

陈天朝^{1*}, 翟来超²

(1. 河南中医学院第一附属医院药学部, 郑州 450000; 2. 河南中医学院药学院, 郑州 450008)

[摘要] 目的: 研究地黄中梓醇与毛蕊花糖苷的含量测定方法, 为其质量评价提供依据。方法: 采用 HPLC 梯度洗脱法, 在同一色谱条件下测定含量。色谱条件: AgilentSB-AQ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm 5 μm), 流速 1 mL·min⁻¹, 柱温 25 °C, 检测波长 210 nm。结果: 两种成分均能达到基线分离, 线性良好。结论: 经过系统的方法学考察, 该方法操作简便、结果准确、重现性好, 适用于地黄 2010 年版药典规定的这 2 种苷类成分的含量测定。

[关键词] 梓醇; 毛蕊花糖苷; 梯度洗脱; 含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)05-0105-03

HPLC Simultaneously Determination of Content About Catalpol and Verbascoside in Rehmannia

CHEN Tian-chao^{1*}, ZHAI Lai-chao²

(1. The First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China;
2. Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

[Abstract] **Objective:** To study the determination method about the catalpol and verbascoside, provide basis for quality evaluation. **Method:** Gradient elution was applied in HPLC analysis. Agilent SB-AQ chromatographic column(4.6 mm × 250 mm 5 μm), velocity 1 mL·min⁻¹, column temperature was 25 °C, wavelength was 210 nm. **Result:** Two components can achieve good baseline separation, linear. **Conclusion:** After the systematic methodology, the method is simple, accurate, reproducible, applicable to the provisions by pharmacopoeia rehmannia glutinosa two content determination.

[Key words] catalpol; verbascoside; gradient elution; content determination

地黄为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Li-bosch. 的新鲜或干燥块根, 为临床常用的中药, 具有清热生津、凉血止血的作用, 主要含有环稀醚萜苷类如梓醇、毛蕊花糖苷等。目前 2010 年版药典把二者作为含量测定指标^[1], 笔者查阅文献未发现对二者进行同时测定的, 并且药典中梓醇的含量测定方法有一定局限性, 本方法为地黄的含量测定提供了新的参考。

1 仪器与试剂

[收稿日期] 20101001(002)

[基金项目] 河南中医学院院级课题(2008kj14)

[通讯作者] * 陈天朝, 主任药师, 中药剂型及中药学硕士生导师, 研究方向: 中药剂型研究, Tel: 13700845011, E-mail: ctc661111@163.com

1.1 仪器 日本岛津 LC-10AVP 高效液相色谱仪; SPD-M10AVP 二极管阵列检测器、CTO-10ASVP 柱温箱, Shimadzu CLASS-VP 色谱工作站, Sartorius CP225D 分析天平。

1.2 试剂 乙腈色谱纯, 甲醇色谱纯, 自制纯化水, 色谱用磷酸。

1.3 药品 地黄取自河南中医学院一附院药行, 产地为河南, 经陈天朝主任药师鉴别为玄参科植物地黄 *R. glutinosa* 的新鲜或干燥块根。梓醇(批号 808-9301)由中国药品生物制品检定所提供, 毛蕊花糖苷购于四川维克奇生物科技公司(纯度大于 98%)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适应性试验 AgilentSB-AQ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流速 1 mL·

min⁻¹ 流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液, 梯度洗脱程序: 0~13.00 min (1% 乙腈), 13.01~35.00 min (19% 乙腈), 柱温 25℃, 检测波长 210 nm (梓醇)。理论塔板数按梓醇峰计算不低于 7 000, 按毛蕊花糖苷峰计算不低于 5 000。

2.2 试液的配制

2.2.1 混合对照品溶液的制备 精密称量梓醇对照品 5.04 mg, 毛蕊花糖苷对照品 2.71 mg, 用流动相 (1% 乙腈) 定容至 50 mL 量瓶中, 混合均匀, 得浓度分别为 108.54.2 mg·L⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取地黄粉末约 1 g, 精密称定, 加甲醇 50 mL, 称重, 水浴回流提取 90 min, 冷却后称重, 补足差重, 滤过, 精密量取续滤液 10 mL, 水浴蒸干, 残渣用流动相 (乙腈 1%) 转移并定容至 10 mL 量瓶, 即得。

2.3 系统适应性试验 取混合对照品溶液及供试品溶液分别用 0.45 μm 滤头滤过, 按 2.1 项下色谱条件分别进样 10 μL, 见图 1。

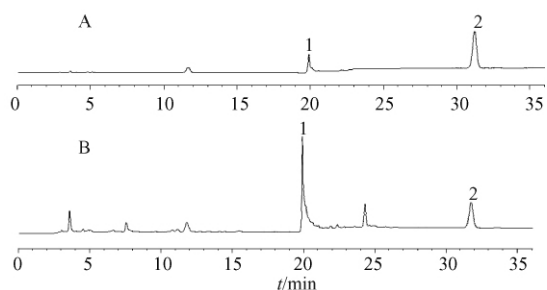


图 1 地黄 HPLC

A. 对照品; B. 供试品; 1. 梓醇; 2. 毛蕊花糖苷

2.4 线性关系的考察 取 2.2.1 项下混合对照品溶液 1.2, 4.6, 8, 10 μL, 按谱条件测定, 记录色谱图。以峰面积积分值 (Y) 对进样量 (X) 进行线性回归, 计算得回归方程, 分别为梓醇 $Y = 53.576X - 4.102$, $r = 0.9999$, 线性范围 0.1008~1.008 μg, 毛蕊花糖苷 $Y = 2.01 \times 10^6 X - 1.94 \times 10^4$, $r = 0.9996$, 线性范围 0.0542~0.542 μg。

2.5 稳定性试验 取供试品溶液, 分别在 0, 1, 2, 4, 8, 12, 24 h 进行测定, 记录色谱图, 结果梓醇 RSD 1.5%, 毛蕊花糖苷 RSD 0.64%, 表明供试品溶液在室温条件下放置 24 h 稳定性良好。

2.6 重复性试验 取同一批次样品, 平行按 2.2.2 项下方法制备 6 份, 分别测定, 记录色谱图, 结果梓醇峰面积 RSD 1.3%, 毛蕊花糖苷峰面积 RSD 1.3%, 表明本方法重复性良好。

2.7 精密度实验 取供试品溶液, 重复进样 6 次, 其中梓醇峰面积 RSD 0.54%, 毛蕊花糖苷峰面积 RSD 0.57%, 说明有良好的精密度。

2.8 加样回收试验 取 6 份同一批地黄, 每份约 1 g, 精密称量, 精密加入梓醇、毛蕊花糖苷混合对照品溶液 10 mL (108.54.2 mg·L⁻¹), 按上述供试品制备方法处理, 进样, 测定峰面积, 计算含量, 结果见表 1、2。

表 1 梓醇加样回收试验

| 样品中量 / μg | 加入量 / μg | 测得量 / μg | 回收率 / % | 平均值 / % | RSD / % |
|-----------|----------|----------|---------|---------|---------|
| 2.236 | 1.008 | 3.200 | 98.6 | | |
| 2.218 | 1.008 | 3.198 | 99.1 | | |
| 2.232 | 1.008 | 3.289 | 101.5 | 99.6 | 1.77 |
| 2.201 | 1.008 | 3.267 | 101.8 | | |
| 2.173 | 1.008 | 3.155 | 99.2 | | |
| 2.208 | 1.008 | 3.126 | 97.2 | | |

表 2 毛蕊花糖苷加样回收试验

| 样品中量 / μg | 加入量 / μg | 测得量 / μg | 回收率 / % | 平均值 / % | RSD / % |
|-----------|----------|----------|---------|---------|---------|
| 430 | 542 | 968 | 99.6 | | |
| 432 | 542 | 989 | 94.9 | | |
| 432 | 542 | 954 | 101.5 | 97.9 | 2.39 |
| 433 | 542 | 926 | 97.9 | | |
| 430 | 542 | 946 | 97.3 | | |
| 431 | 542 | 938 | 96.4 | | |

2.9 样品测定 取 3 批不同批次地黄药材, 粉碎取粉末约 1 g, 精密称定, 按 2.2.2 项下处理方法制备, 按 2.1 项下色谱条件测定, 计算含量见表 3。

表 3 地黄药材含量测定

| No. | 药材取样量 / g | 梓醇 / mg·g ⁻¹ | 毛蕊花糖苷 / mg·g ⁻¹ |
|-----|-----------|-------------------------|----------------------------|
| 1 | 1.0580 | 2.113 | 0.409 |
| 2 | 1.1078 | 2.127 | 0.388 |
| 3 | 1.0235 | 2.123 | 0.419 |

3 讨论

3.1 测定波长的选择 梓醇和毛蕊花糖苷的最大吸收波长分别为 210, 337 nm, 梓醇在 337 nm 处没有吸收, 而毛蕊花糖苷在 210 nm 处几乎没有改变, 故选择 210 nm 作为检测波长^[2]。

3.2 色谱方法及梯度条件的选择 本方法依据 2010 年版药典中梓醇的含量测定方法, 但药典中的方法并不理想, 更适用于鲜地黄, 而对于梓醇及其苷

HPLC 测定海麻雀中腺苷的含量

谭莉萍¹, 谭小勇²

(1. 韶关学院医学院, 广东 韶关 512026; 2. 韶关市药品检验所, 广东 韶关 512028)

[摘要] 目的:建立海麻雀中腺苷的含量测定方法。方法:采用高效液相色谱法,流动相为磷酸盐缓冲液(pH 6.5)-甲醇(80:20),色谱柱为依利特 Hypersil ODS-C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm),流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 260 nm。结果:腺苷在 0.128 3~0.342 1 μg 呈良好线性关系,平均加样回收率 98.4%,RSD 1.1%。结论:方法操作简单,结果可靠,重复性好,可以为海麻雀质量控制提供科学依据。

[关键词] 海麻雀;腺苷;高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)05-0107-03

Determination of Adenosine in Pegasus Laternarius Cuvier by HPLC

TAN Li-ping¹, TAN Xiao-yong²

(1. Medical College of Shaoguan University, Shaoguan 512026, China;

2. Shaoguan Institute for Drug Control, Shaoguan 512028, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for content determination of adenosine in *Pegasus laternarius* Cuvier. **Method:** HPLC conditions were as follow: the mobile phase was phosphate buffer saline (pH 6.5) -methanol(80:20), Hypersil ODS-C₁₈ column(4.6 mm×250 mm, 5 μm), volume flow 1.0 mL·min⁻¹, wave length at 260 nm. **Result:** Linearity was found in the range of 0.128 3-0.342 1 μg, the average recovery was 98.4% and RSD was 1.1%. **Conclusion:** The results show that this method is simple, accurate and reproducible, it call be used for quality control in *P. laternarius*.

[Key words] *Pegasus laternarius*; adenosine; HPLC

海麻雀是海蛾鱼科动物海蛾 *Pegasus laternarius* Cuvier 的干燥全体^[1]。性味咸,温。具有散结、消肿、解毒之功效。主要用于淋巴腺肿大,咽喉肿痛,

疮疗肿毒^[2]。在《广东省中药材标准》及 2005 年版《中国药典》中,对海麻雀药材均无含量测定记载。腺苷是海麻雀中所含的一种天然性水溶性成分,故本文选择水溶性成分腺苷作为含量测定的指标成分。采用高效液相色谱法测定本品中腺苷的含量,它能有效地控制和评价海麻雀的质量。该检测方法

[收稿日期] 20100830(007)

[第一作者] 谭莉萍,讲师,主管药师,从事药学教学工作,E-mail:xlongs2006@126.com

类含量下降的生地黄以及熟地黄来说,药典方法效果不太理想。笔者考察了不同的梯度条件以及不同流动相,从而确定该方法,但发现因梯度变化太快,在 2 个成分之间会出现一个溶剂峰,如果降低梯度的变化,则会出现更多的杂质峰,有待于进一步解决。

本文建立了 HPLC 同时测定地黄中梓醇和毛蕊花糖苷的含量测定方法,经过方法学考察,线性、重

复性、精密度均良好,可作为地黄的质量控制方法。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S].2010:286.
- [2] 宋子荣,谭梓骏,陈百松,等.地黄提取工艺的优化[J].中国实验方剂学杂志,2006,12(1):8.

[责任编辑] 顾雪竹