

RP- HPLC测定不同厂家六味地黄浓缩丸中的没食子酸

贾晓斌^{1, 4}, 封 亮^{1, 2}, 范晨怡¹, 李长春³, 高 松³, 郭水柱³, 丁安伟⁴, 高成林¹

(1 江苏省中医药研究院、中药新型给药系统重点实验室、国家中医药管理局名医方适宜剂型重点研究室, 江苏 南京 210028; 2 江苏大学, 江苏 镇江 212013; 3 河南宛西制药有限公司博士后工作站, 河南 南阳 473001; 4 南京中医药大学中药学博士后流动站, 江苏 南京 210029)

摘要: 目的 测定六味地黄浓缩丸中的没食子酸, 并比较不同厂家产品中没食子酸的含量。方法 采用 RP- HPLC法, 色谱柱为 A lltima C₁₈柱, 流动相为乙腈- 0. 1% 甲酸梯度洗脱, 流速为 0. 5 m l m in^{- 1}, 检测波长为 242 nm, 进样量 5 μ l, 时间为 30 m in, 柱温为 30℃。结果 没食子酸线性回归方程为: $Y = 7. 526 \times 10^3 X - 47\ 308$ ($r = 0. 9994$), 线性范围 0. 103~ 1. 648 μ g 平均加样回收率为 98. 96% ($RSD = 1. 16\%$)。结论 所建方法简便、准确、稳定、可靠, 可评价不同厂家的六味地黄浓缩丸。

关键词: 六味地黄浓缩丸; 高效液相色谱法; 没食子酸; 含量测定

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1006- 0103(2008) 06- 0708- 02

Content detem ination of galic acid in Liuwei D ihuang concentrated pills by RP- HPLC

JIA X iao- bin^{1, 4}, FENG Liang^{1, 2}, FAN Chen- yi¹, LI Chang- chun³, GAO Song³, GUO Shui- zhu³, DING An- wei⁴, GAO Cheng- lin¹

(1 Jiangsu Provincial Academy of Chinese Medicine, Key Laboratory of New Drug Delivery System of Chinese Materia Medica, Key Laboratory of Scientific Preparation for Clinical Effective Prescription of State Administration of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China; 2 Department of Pharmaceutics, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China; 3 Post- doctoral Fellowship of Wanxi Pharmaceutical Co., Ltd, Nanyang 473001, China; 4 Center for Post- doctoral Studies of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China)

Abstract **OBJECTIVE** To determine the contents of gallic acid in Liuwei Dihuang concentrated pills and to compare the contents in products from different pharmaceutical companies **METHODS** RP- HPLC was adopted using A lltima C₁₈ column. The mobile phase consisted of acetonitrile and 0. 1% formic acid with program elution at a flow- rate of 0. 5 m l m in^{- 1}. The detection wavelength was 242 nm. The column temperature was 30℃. **RESULTS** The calibration curve was linear in the range of 0. 103- 1. 648 μ g ($r = 0. 9994$). The average recovery was 98. 96% with RSD of 1. 16%. **CONCLUSION** The method is simple, accurate and reliable. It can be used to evaluate the quality of Liuwei Dihuang Concentrated pills from different pharmaceutical companies.

Key words Liuwei Dihuang Concentrated pills; HPLC; Galic acid; Content detem ination

CLC number: R917

Document code: A

Article ID: 1006- 0103(2008) 06- 0708- 02

六味地黄丸是经典的滋补名方, 由熟地黄、山茱萸、山药、牡丹皮、泽泻、茯苓等六味药材组成, 临床上用于治疗肾阴亏损、头晕耳鸣、腰膝酸软、骨蒸潮热、盗汗遗精和消渴等症。其质量控制主要是测定丹皮酚和马钱苷两种有效成分^[1]。没食子酸是山茱萸中的一种有机酸, 具有众多的药理活性。已有山茱萸和六味地黄丸中没食子酸含量测定的报道^[2, 3], 但未见不同厂家六味地黄浓缩丸中没食子酸含量比较的报道。现参考文献^[4, 5], 采用 RP- HPLC法测定了 10 个厂家生产的六味地黄浓缩丸中没食子酸的含量, 可评价不同厂家的产品质量。

1 实验部分

1. 1 仪器与材料

Agilent1200型高效液相色谱仪系统 (美国安捷

伦)。10批六味地黄浓缩丸 (武汉鄂中药业有限公司、批号: 050705, 河南宛西制药股份有限公司、批号: 0604102, 九芝堂股份有限公司、批号: 20070243, 湖南芝林药业集团股份有限公司、批号: 18060003, 修正药业集团通化市制药有限公司、批号: 070129, 芜湖张恒春药业、批号: 0611011, 哈药集团世一堂制药厂、批号: 0701704, 兰州佛慈制药股份有限公司、批号: 2007319, 山东孔圣堂制药有限公司、批号: 070207, 芜湖绿叶制药有限公司、批号: 070301); 没食子酸对照品 (中国药品生物制品检定所); 乙腈为色谱纯; 甲酸、甲醇为分析纯; 水为纯净水。

1. 2 方法与结果

1. 2. 1 溶液的制备 参照文献^[6]方法, 取 1. 0 g 研细的六味地黄浓缩丸, 加入 10 ml 甲醇, 称重后, 超

基金项目: 江苏省中医药领军人才项目 (2006)

作者简介: 贾晓斌 (1966-), 男, 江苏如皋, 研究生导师, 从事方剂物质基础与现代中药制剂创新研究。E- mail: jxiaobin2005@ hotmail. com

声提取 (15 min × 2), 冷却, 再称重, 用甲醇补足重量, 过滤, 合并滤液, 滤液浓缩后用甲醇定容至 10 mL 量瓶中, $1.4 \times 10^3 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心, 上清液用 0.45 μm 滤膜过滤, 取续滤液作为供试品溶液。取没食子酸对照品适量, 精密称定, 加甲醇配制成 0.3296 mg·mL⁻¹ 的对照品溶液。

1.2.2 色谱条件 色谱柱为 Alltima C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈 (A) - 0.1% 甲酸梯度洗脱 (0~20 min, 5% A → 10% A; 20~30 min, 10% A → 15% A)。流速为 0.5 mL·min⁻¹, 检测波长为 242 nm, 柱温为 30℃, 进样量 5 μL。

1.2.3 线性范围和线性度 将没食子酸对照品溶液用甲醇等倍稀释成 20.6, 41.2, 82.4, 164.8, 329.6 μg·mL⁻¹ 的对照品溶液。按“1.2.2”项色谱条件进样, 记录没食子酸的峰面积。以峰面积为纵坐标、浓度为横坐标进行线性回归。其回归方程为: $Y = 7.526 \times 10^3 X - 47\,308$ ($r = 0.9994$), 线性范围为 0.103~1.648 μg。

1.2.4 精密度的试验 取同一份六味地黄浓缩丸供试液, 按“1.2.2”项色谱条件, 连续进样 5 次。没食子酸峰面积的 $RSD = 2.98\%$, 表明仪器精密度良好。

1.2.5 稳定性试验 取同一份六味地黄浓缩丸供试液, 按“1.2.2”项色谱条件, 分别在 0, 6, 12, 18, 24 h 时进样测定。没食子酸峰面积的 $RSD = 2.67\%$, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

1.2.6 重复性试验 取同一批研细的六味地黄浓缩丸粉末, 按“1.2.1”项的方法平行制备 5 份供试品溶液, 再按“1.2.8”项方法测定含量。其含量的 $RSD = 2.41\%$, 结果表明, 此法具有较好的重复性。

1.2.7 加样回收试验 精密称取 1.0 g 已知含量的六味地黄浓缩丸细粉, 共 9 份, 分成 3 组 (每组 3 份)。3 组中分别加入对照品溶液 4.3, 4.0, 2.7 mL, 置具塞锥形瓶中, 分别按“1.2.1”项的方法制备成供试品溶液, 并按“1.2.8”项的方法测定没食子酸的含量, 计算没食子酸的回收率 (表 1)。

表 1 没食子酸的加样回收率结果

Table 1 Results of recovery test on gallic acid					
Original/mg	Added/mg	Detected/mg	Recovery/%	$\bar{X}/\%$	$RSD/\%$
0.9388	1.0190	1.9347	97.73	98.96	1.16
0.9234	1.0190	1.9323	99.01		
0.9227	1.0190	1.9384	99.68		
0.9292	0.9264	1.8255	96.75	99.61	0.02
0.9241	0.9264	1.8469	99.61		
0.9215	0.9264	1.8388	99.02		
0.9455	0.8338	1.7692	98.79	99.40	0.68
0.9245	0.8338	1.7533	99.40		
0.9277	0.8338	1.7672	100.68		

1.2.8 样品的测定 取不同厂家的六味地黄浓缩

丸样品, 按“1.2.1”项的方法制备成供试品溶液。分别精密吸取供试品溶液和对照品溶液, 进样, 记录峰面积, 以峰面积按外标法计算含量。色谱图见图 1。测得世一堂、宛西、佛慈、修正、孔孟、鄂中、张恒春、药芝林、绿叶、九芝堂 10 个厂家的六味地黄浓缩丸中没食子酸的含量分别为 0.9267, 1.2926, 1.3473, 1.0177, 1.3741, 1.3355, 1.6412, 1.0125, 0.8942, 1.2872 mg·g⁻¹。

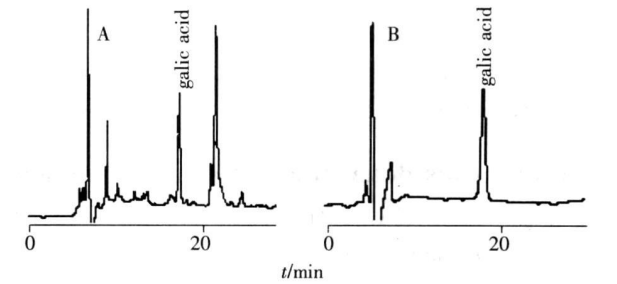


图 1 六味地黄浓缩丸 (A) 和没食子酸对照品 (B) 溶液的色谱图
Fig 1 HPLC chromatographs of sample solution (A) and control solution (B)

2 讨论

没食子酸最大吸收在 215, 270 nm 处^[2-5]。实验中参考文献^[6], 并针对六味地黄浓缩丸成分的特点, 采用 242 nm 作为检测波长, 其基线平稳, 没食子酸的色谱峰峰形对称、尖锐、保留时间适中。含量测定结果表明, 10 个厂家的六味地黄浓缩丸中的没食子酸含量存在一定差异, 其含量为 0.8942~1.6412 mg·g⁻¹。其中, 芜湖绿叶产品中没食子酸的含量最低, 而芜湖张恒春的含量最高。可能因各厂家工艺条件的差异所致; 也可能是原药材质量的差异。文中方法操作简便、稳定、准确、可靠, 可为六味地黄浓缩丸的质量控制和质量标准的研究提供参考依据。

参考文献:

[1] 中华人民共和国国家药典委员会. 中国药典 [S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005. 401-402.
[2] 刘传华, 解希田, 刘贤锡, 等. RP-HPLC 法测定六味地黄丸中没食子酸的含量 [J]. 药物分析杂志, 2005, 25 (5): 590-591.
[3] 童荣生. 高效液相色谱法测定山茱萸中没食子酸的含量 [J]. 实用医院临床杂志, 2006, 3 (4): 27-28.
[4] 郭朝晖, 倪琳, 蒋生祥. HPLC 测定苦味叶下珠胶囊中没食子酸的含量 [J]. 华西药学杂志, 2007, 22 (1): 81-82.
[5] 刘冬凌, 胡波, 熊文碧. HPLC 测定速效止泻胶囊中没食子酸的含量 [J]. 华西药学杂志, 2007, 22 (2): 214-215.
[6] 王喜军, 张宁, 孙晖. 六味地黄丸指纹图谱研究 [J]. 中国中药杂志, 2004, 29 (10): 1004-1005.

收稿日期: 2007-12