

高效液相色谱法测定地黄丸类 中成药中丹皮酚含量

李吉锋 祝保林 高锦红 王秋亚

(渭南师范学院化学化工系, 渭南, 714000)

摘要 用高效液相色谱法对不同品牌和类别地黄丸中的丹皮酚进行了测定。考察了甲醇、乙醇、氯仿、四氯化碳4种溶剂提取丹皮酚的效果, 综合考虑提取剂毒性、提取率和对分离的影响, 选择甲醇作提取剂。对色谱方法的稳定性、准确度、精密度和线性进行了考察。对不同品牌和类别地黄丸中的丹皮酚含量进行了比较分析, 各品牌有较大差别。产生差别的主要原因是药材产地和组方不同。本方法可作为地黄丸生产中的质量控制方法。

关键词 地黄丸 丹皮酚 高效液相色谱法

1 前言

知柏地黄丸、杞菊地黄丸、六味地黄丸是中药复方制剂, 具有滋肾养肝之功效。他们的共同成分有熟地黄、山茱萸、牡丹皮、山药、茯苓、泽泻等六味, 其中牡丹皮具有清热凉血、活血散瘀之功效^[1], 主要活性成分丹皮酚具有镇静、催眠、解热、镇痛、抗炎等作用^[2,3], 近来研究发现, 丹皮酚在体内外具有抗肿瘤作用^[4-6]。为更好地控制产品质量, 保证用药的有效与安全, 我们通过实验研究, 建立了以牡丹皮的主要活性成分丹皮酚为指标, 经溶剂提取后用高效液相色谱法(HPLC)测定其含量的方法。

本法快速, 简便, 准确, 重复性好, 为该制剂的质量控制提供了快速、准确的方法。

2 实验部分

2.1 仪器

岛津 LC-10ATVP 泵, SCL-10AVP 控制器, DGU-14A 脱气机, CTO-10AVP 柱温箱, SPD-10AVP 紫外检测器, Class-VP 6.12 工作站, SZ-93 自动双重纯水蒸馏器(上海亚荣), 岛津 C-18 柱(4.6mm×250mm, 5μm)。

2.2 试剂与材料

甲醇(色谱纯, 天津科密欧), 无水乙醇(AR), 三氯甲烷(AR), 四氯化碳(AR), 二次重蒸去离子水(实验室制备)。丹皮酚对照品(昆明科翔生物科技)。不同品牌地黄丸: 杞菊地黄丸(陕西天洋, 张

恒春药业), 六味地黄丸(陕西天洋, 湖南九芝堂), 知柏地黄丸(陕西天洋)。

2.3 对照液的制备

准确称取丹皮酚对照品约 50mg, 加甲醇溶解后定容于 100mL 容量瓶, 作为储备液。分别稀释成不同浓度的工作液, 取 30.00mg/L, 进样 5μL, 谱图见图 1。色谱条件为: 甲醇-水(80:20), 流速 0.8 mL/min, 柱温 30℃, 检测波长 274nm。柱效按照丹皮酚计算, 理论塔板数不低于 2500, 分离度不低于 2.5。以下实验过程所用色谱条件均同此。

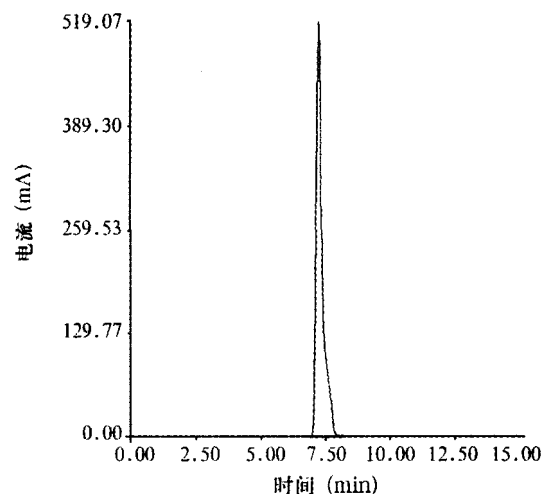


图 1 丹皮酚对照品色谱图

2.4 样品溶液的制备

杞菊地黄丸样品经 FW80-粉碎机粉碎后, 准确称取约 1.0000g 于 100mL 具塞锥形瓶中。加

作者简介: 李吉锋, 男, 1977 年出生, 山东青岛人, 讲师, 理学硕士, 主要研究方向为中药微量元素光谱分析和中药高效液相色谱指纹图谱分析。

E-mail: ustcl@163.com

20mL的甲醇,于50~60℃水浴加热搅拌提取2h,倾出上清液,并加少量甲醇洗涤残渣3次,合并3次洗涤液以及初次倾出上的清液,用0.45μm滤膜过滤后定容于50mL容量瓶中作为供试品,进样5μL测定,样品谱图见图2。

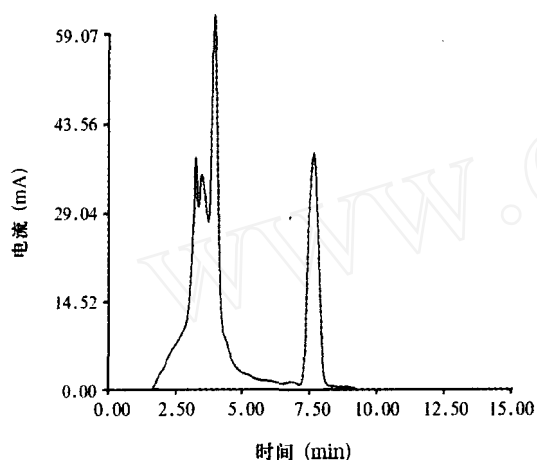


图2 杞菊地黄丸色谱图

3 结果与讨论

3.1 试样提取方法考察

分别采用甲醇、无水乙醇、三氯甲烷、四氯化碳

对陕西天洋出产的杞菊地黄丸进行提取,测定结果见表1。

表1 不同提取剂的提取效果

提取剂	甲醇	无水乙醇	三氯甲烷	四氯化碳
丹皮酚含量 (mg/g)	2.40	2.09	0.77	1.65

甲醇提取效果最好,乙醇次之,最差的是三氯甲烷。从提取剂毒性大小和提取效果综合考虑,选用甲醇作为提取剂。

3.2 稳定性

取稀释后同一批次供试品(杞菊地黄丸,陕西天洋),分别在0,2,4,8,24h测定。结果表明,供试品的丹皮酚峰保留时间和峰面积在测定的24h内保持稳定,RSD分别为0.68%和1.0%。

3.3 精密度

取同一批次供试品(杞菊地黄丸,陕西天洋),连续进样5次,测定结果见表2。

丹皮酚峰保留时间的RSD为1.0%,峰面积的RSD为0.92%,方法精密度较好。

表2 方法精密度实验结果

	1	2	3	4	5	RSD (%)
保留时间(min)	6.089	6.082	6.072	6.221	6.096	1.0
峰面积	490752	496965	488976	488942	484538	0.92

3.4 重现性

取同一批次(杞菊地黄丸,陕西天洋)样品,按供试品制备方法分别制备3份供试品,测定结果见表3。各共有峰保留时间的RSD为0.86%,峰面积的RSD为1.54%,表明本法测定的重现性良好。

表3 方法重现性实验结果

	试样1	试样2	试样3	RSD (%)
保留时间 (min)	6.350	6.460	6.405	0.86
峰面积	833655	859728	846692	1.54

3.5 线性范围

取丹皮酚对照液稀释配制浓度分别为10、20、30、40、50mg/L的丹皮酚标准溶液,进样5μL测定。以峰面积为纵坐标,以浓度为横坐标做图,得到标

准曲线回归方程和相关性系数 $y = 16867x - 5852$, $R^2 = 0.9998$,表明丹皮酚在上述浓度范围内线性关系良好。

3.6 准确性

称取同一批次粉碎后陕西天洋杞菊地黄丸1.0000g共3份,均加入2.8mg丹皮酚,按照2.4处理,测定结果见表4。加标回收率均大于93%,准确性较好。

表4 加标回收率测定结果

样品含量 (mg/g)	加入量 (mg/g)	测得量 (mg/g)	回收率 (%)	RSD (%)
2.40	2.80	5.01	93.21	
2.40	2.80	5.05	94.64	0.51
2.40	2.80	5.03	93.93	

3.7 丹皮酚含量测定

根据不同品牌和类别的地黄丸中丹皮酚峰面积值用回归方程进行计算,得到不同品牌和类别地黄丸中丹皮酚含量。分别对 3 批样品进行测定,取平均值,结果见表 5。

表 5 不同品牌和类别地黄丸中丹皮酚测定结果

样品	杞菊地黄丸 (天洋)	杞菊地黄丸 (张恒春药业)	六味地黄丸 (天洋)	六味地黄丸 (九芝堂)	知柏地黄丸 (天洋)
丹皮酚含量 (mg/g)	2.40	0.97	2.43	0.07	0.83

4 结 论

采用不同提取剂对地黄丸类药品进行提取,利用 HPLC 分离测定。结果表明,甲醇在所使用的提取剂中提取效果最好。对流动相组成,流速,温度等进行了优化。在流动相为甲醇-水(80:20),流速 0.8mL/min,柱温 30℃,检测波长 274nm 条件下,分离测定效果较好,分离度均大于 2.5。对不同厂家和类别的地黄丸药品中丹皮酚含量进行测定的结

果表明,同是杞菊地黄丸,丹皮酚含量差异比较大;同是六味地黄丸,丹皮酚含量差异也比较大。丹皮酚是地黄丸中主要的有效成分之一,不同品牌地黄丸中丹皮酚含量之所以不同,除与加工工艺有关外,最主要的是与所使用的原料药材有关,“药材好,药才好”。不同类别地黄丸中丹皮酚含量高低差异是正常的,因为组方不同,功效侧重不同。

参考文献

- 1 梁贵键,吕冬等. 空军总医院学报,2005,21(4): 206-207
- 2 章灵华,肖培根,黄艺等. 中国中西医结合杂志,1996,16(3):187-190
- 3 刘雪君,陈维宁,戴功. 中国药理学通报,1993,9(6): 464-470
- 4 Chung J G. Food Chen Toxicol, 1999,37(4): 327-334
- 5 Chang H L, Hung C F, Yeh C C, et al. Cytobios, 2000,103(404): 149-158
- 6 孙国平,沈玉先,张玲玲等. 安徽医科大学学报,2002,37(3): 183-185

收稿日期: 2009-05-10

High performance liquid chromatographic determination of paeonol contents in Dihuang pills. Li Jifeng, Zhu Baolin, Gao Jinhong, Wang Qiuya (Department of Chemistry and Chemical Engineering, Weinan Teachers College, Weinan, 714000)

The paeonol contents in Dihuang pills of different brands and categories were determined by high performance liquid chromatography (HPLC). The effects of four different solutions (methanol, ethanol, chloroform, and tetrachloromethane) for the extraction of paeonol were investigated. With the consideration of toxicity, extraction ratio, and the influence on separation, methanol was selected as extractant. The stability, accuracy, precision, and linearity of the HPLC method were studied also. The paeonol contents in different brands and categories of Dihuang pills were compared, and the results showed that they were quite different. The main causes are that the raw materials are produced in different places, and the compositions of different brands are different. The method can be used for quality control in the production of Dihuang pills.