

HPLC 法测定肾气丸中马钱苷的含量

★ 熊志刚¹ 陈梅荣² 田晓明³ (1. 江西南华医药有限责任公司 南昌 330046; 2. 江西省药物研究所 南昌 330029; 3. 江西中医学院高等职业技术学院 南昌 330004)

关键词: 肾气丸; 高效液相色谱法; 马钱苷; 含量测定

中图分类号: R 284.1 **文献标识码:** B

肾气丸出自张仲景的《金匱要略》, 是温补肾阳的代表方剂, 该方由附子(制)、肉桂、熟地黄、山药、山茱萸(制)、泽泻、茯苓、牡丹皮八味药组成, 含有多糖类、苷类及三萜类成分, 其中马钱苷具有明显的抗炎、调节免疫的功能^[1], 为方中主药山茱萸的主要有效成分。为控制肾气丸的质量, 本文采用 HPLC 方法测定马钱苷的含量, 经方法学考察, 本法简便、准确、可靠, 能有效的控制本制剂的质量。

1 试药和仪器

1.1 试药 马钱苷对照品由中国药品生物制品检定所提供(供含量测定用, 批号为 111640-200502); 所用药材均购于江西药都樟树中药饮片有限公司; 乙腈为色谱纯, 水为二次蒸馏水, 其它试剂均为分析纯。肾气丸: 自制。

1.2 仪器 高效液相色谱仪: UV 200 II 紫外可变波长检测器, P200 高压恒流泵, EC2000 色谱工作站; METTLER AE100 电子天平(梅特勒公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Alltima C (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈: 水(15: 85), 检测波长: 240 nm, 流速: 1.0 ml/min, 进样量: 10 μl, 柱温: 25 ℃。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取马钱苷对照品适量, 加甲醇制成每 1 ml 含马钱苷 40 μg 的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备 取本品适量, 研碎, 取约 1.0 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 ml, 称定重量, 加热回流 1 小时, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 阴性对照溶液的制备 取阴缺山茱萸的阴性样品 1 g, 按供试品溶液制备方法同法制备, 即得。

2.5 阴性干扰试验 取马钱苷对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 10 μl, 分别注入液相色谱仪中, 记录色谱图。结果马钱苷峰保留时间约为 6 分钟左右, 阴性对照在相应位置上无干扰峰, 供试品在上述色谱条件下与其它组分分离较好, 理论塔板数按马钱苷峰计在 3 000 以上。

2.6 标准曲线的制备 取马钱苷对照品约 1 mg, 精密称定, 置 25ml 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 分别精密吸取 2.4、8、10、12、15 μl 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 以马钱苷进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 计算

得回归方程为: $y = 423.17.609.0x - 586.518.8$, $r = 0.999.8$ ($n = 6$)。

2.7 精密度试验 精密吸取马钱苷对照品溶液 10 μl, 注入液相色谱仪, 连续进样 6 次, 测定峰面积, 结果 RSD 为 0.76%。

2.8 样品溶液稳定性试验 取同一供试品溶液, 于 0、1、2、4、6、8、12 小时分别测定记录峰面积, 结果 RSD 为 0.71%, 表明供试品溶液在 12 小时内稳定。

2.9 重复性试验 取样品 6 份, 按含量测定方法依法测定含量, 结果 RSD 为 1.07%, 表明此方法重复性较好。

2.10 加样回收试验 精密称取已知含量的样品适量, 共 6 份, 分别精密加入一定量的马钱苷对照品, 按上述色谱条件测定, 计算回收率, 得平均回收率为 98.58%, RSD 为 1.49%。

2.11 样品测定 按含量测定方法分别测定 5 批样品, 结果见表 1。

表 1 样品测定结果 ($n = 2$) /mg·g⁻¹

批号	马钱苷的含量
20060401	2.1025
20060402	2.2038
20060403	2.1229
20060404	2.3145
20060501	2.2569

3 讨论

(1) 流动相的选择: 分别考察了甲醇: 水、甲醇: 1% 冰醋酸、乙腈: 水、乙腈: 1% 冰醋酸流动相系统, 试验表明, 乙腈: 水(15: 85) 能将马钱苷与其它组分良好分离, 峰形也好。因此我们选择乙腈: 水(15: 85) 为流动相。

(2) 样品前处理时, 对不同回流时间进行了比较试验, 结果表明回流提取 60 分钟即可。

(3) 马钱苷为山茱萸的主要有效成分, 将其作为含量测定指标, 可以有效的成品质量, 而且该法灵敏度高、重现性好, 准确可行。

参考文献

[1] 赵武述, 张玉琴, 李洁, 等. 山茱萸成分的免疫活性研究[J]. 中草药, 1990, 21(3): 113-116.

(收稿日期: 2009-04-20 责任编辑: 曹征)