

HLPC 法测定山茱萸中熊果酸的含量

★ 涂兴明 (广州中医药大学附属骨伤科医院 广州 510240)

★ 黄有仲 欧阳毅 (广东省广州市芳村区人民医院 广州 510370)

★ 朱涛 (广东省广州市暨南大学第一附属医院中医科 广州 510360)

摘要:目的:建立山茱萸中熊果酸的含量测定方法。方法:采用 Hypersil ODS 色谱柱;流动相为乙腈-甲醇-水-醋酸铵(68:10:22:0.5);检测波长为 220 nm;流速为 1 mL/min。结果:在 1.99~9.96 μg 范围内具有良好的线性关系, $r=0.9994$,平均回收率为 97.63%, $RSD=1.00\%$ 。结论:该方法简便、重现性好,可作为山茱萸质量控制方法。

关键词:山茱萸;熊果酸;高效液相色谱法

中图分类号:R 284.1 **文献标识码:**A

1 仪器与试剂

HP-1050 高效液相色谱仪;乙腈、甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯;熊果酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号 742-200111);山茱萸(购于广东省药材公司中药饮片厂)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱:Hypersil ODS(250 mm $\times$ 4.0 mm,5 μm);流动相为乙腈-甲醇-水-醋酸铵(68:10:22:0.5);流速:1 mL/min;检测波长:220 nm;柱温:室温。在上述条件下样品中熊果酸(保留时间为 18.9 分钟)与齐墩果酸(保留时间为 17.8 分钟)等成分分离度大于 1.5,理论塔板数大于 8 000。

2.2 对照品溶液的制备 取熊果酸对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含量 0.5 mg 的溶液,摇匀,即得。

2.3 供试品溶液的制备 取本品粗粉 1 g,精密称定,置索氏提取器内,加乙醚适量,加热回流提取 4 小时,提取液回收乙醚至干,残渣加石油醚(30~60 $^{\circ}\text{C}$)浸泡 2 次,每次 15 mL(约浸泡 2 分钟),倾石油醚,残渣加甲醇微热使溶解,定量转移至 5 mL 量瓶内,并稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

2.4 线性关系考察 精密称取熊果酸对照品适量,加甲醇制成每 mL 含 0.498 mg 的对照品溶液。分别精密吸取熊果酸对照品溶液 4.8、12、16、20 μL ,按上述色谱条件进样测定,以进样量(μg)为横坐标,峰面积积分值 A 为纵坐标,进行线性回归,得回归方程为 $Y=109.004X+11.996$, $r=0.9994$,在 1.99~9.96 μg 范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验 精密吸取上述对照品溶液(0.498 mg/mL)10 μL ,重复进样 5 次,平均峰面积为 565.691, RSD 为 1.80%。

2.6 稳定性试验 对同一熊果酸对照品溶液,每隔 2 小时测定一次,结果平均峰面积为 567.013, RSD 为 2.11%,在 8 小时较稳定。

2.7 重现性试验 取同批样品 5 份,按含量测定项下方法平行试验,测得样品中熊果酸的含量平均为 0.21%, $RSD=2.65\%$ 。

2.8 加样回收率试验 精密称取已知含量的样品适量,精密加入一定量的熊果酸对照品溶液按供试品溶液的制备及样品测定项下操作,测定样品 5 份,结果平均回收率 97.63%, $RSD=1.00\%$ 。

2.9 样品测定 精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10

μL ,分别注入液相色谱仪中,测定峰面积,按外标法计算含量,结果三批山茱萸药材含量分别为 0.20%、0.21%、0.24%, RSD 分别为 3.85%、0.64%及 2.76%。

3 讨论

文献报道熊果酸的甲醇液在 206 nm^[1]、205 nm^[2] 处有最大吸收,在此波长下测定含量溶剂干扰很大。有文献^[3]采用蒸发光散射检测器测定熊果酸的含量,以减少试剂的影响。由于蒸发光散射检测器还未普及,多数文献仍采用紫外检测器进行熊果酸的含量测定。为了减少流动相引起的基线噪音,文献多用 210 nm^[4]、215 nm^[1,2]、220 nm^[5] 作为检测波长,通过多次试验发现,在 210 nm、215 nm 仍有较大的基线噪音,220 nm 基线噪音较小,最后确定检测波长为 220 nm。中药中齐墩果酸和熊果酸常并存,由于两者性质相似,不易将两者分离,因此流动相的选择应考虑使用这两个成分能达到基线分离。文献报道能使齐墩果酸和熊果酸达到基线分离的流动相有乙腈-甲醇-水-醋酸铵(70:16:14:0.5)^[1]、乙腈-甲醇-水-醋酸铵(60:14:28:0.6)^[2]、甲醇-水-冰醋酸-三乙胺(87:13:0.04:0.02)^[4]、甲醇-水(88:12)^[5],经试验通过调节乙腈-甲醇-水适当比例,加入醋酸胺作为改水剂,可使齐墩果酸和熊果酸基本达到基线分离,试验最后确定乙腈-甲醇-水-醋酸铵(68:10:22:0.5)作为流动相。

供试品溶液的制备方法是参考《中国药典》2000 年版一部山茱萸的制备,通过试验,用 HPLC 法替代薄层扫描法测定三批山茱萸含量,均在《中国药典》规定的范围内,表明本方法可行。

参考文献

- [1]丁晴,徐德然,王峰涛. HPLC 法测定六味地黄丸及六味地黄胶囊中齐墩果酸、熊果酸的含量[J]. 中国中药杂志,2002,27(8):587
- [2]鞠建华,周亮,郑瑞霞,等. 高相液相色谱法测定中药枇杷叶熊果酸的含量[J]. 中国药理学杂志,2003,38(9):657
- [3]冯燕芹,王振中,俞海荣. HPLC 法测定六味地黄丸(浓缩)中熊果酸的含量[J]. 中草药,1999,30(3):191
- [4]谢莹,杭太俊,程赞,等. 高相液相色谱法测定中药中齐墩果酸和熊果酸含量[J]. 中国中药杂志,2001,26(9):615
- [5]袁珂,董留民. HPLC 法测定冬凌草中熊果酸、齐墩果酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,1988,4(6):1

(收稿日期:2005-05-16)