

HPLC 法测定金匱肾气丸中马钱苷

闫晓楠¹, 张平²

1. 天津中新药业研究中心, 天津 300457

2. 天津中新药业集团股份有限公司, 天津 300193

摘要: 目的 建立 HPLC 法测定金匱肾气丸中马钱苷的方法。方法 采用 HPLC 法测定。色谱柱: Agilent XDB C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-乙腈-0.1%磷酸 (10:10:80); 检测波长: 236 nm; 体积流量: 1.0 mL/min。结果 马钱苷在 0.042~2.100 μg 与峰面积呈良好的线性关系 ($r=0.999\ 8$), 平均回收率为 98.84%, RSD 为 0.83% ($n=6$)。结论 本方法稳定、可靠, 可作为金匱肾气丸的质量控制方法。

关键词: 金匱肾气丸; 马钱苷; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2011)05-0409-03

Determination of loganin in Jinkui Shenqi Pills by HPLC

YAN Xiao-nan¹, ZHANG Ping²

1. Tech-center of Tianjin Zhongxin Pharmaceuticals, Tianjin 300457, China

2. Tianjin Zhongxin Pharmaceutical Group Co., Ltd., Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To establish an HPLC method to determine loganin in Jinkui Shenqi Pills. **Methods** HPLC method was used. Loganin was assayed on an Agilent XDB C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) column, the mobile phase composed of methanol- acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (10:10:80) at a flow rate 1.0 mL/min, the determination wavelength was 236 nm. **Results** The calibration curve was linear in the range of 0.042—2.100 μg ($r=0.999\ 8$). The average recovery of loganin was 98.84% with RSD 0.83% ($n=6$). **Conclusion** The method is proved to be simple, reliable, accurate, repeatable, and can be used for the quality control of Jinkui Shenqi Pills.

Key words: Jinkui Shenqi Pills; loganin; HPLC

金匱肾气丸由地黄、山药、山茱萸(酒炙)、茯苓、牡丹皮、泽泻、桂枝、附子(炙)、牛膝(去头)、车前子(盐炙)组成, 具有温补肾阳、化气行水的功效, 用于肾虚水肿、腰膝酸软、小便不利等。此方最早记载于宋朝的《济生方》, 目前质量标准收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第20册。山茱萸具有养阴涩精的功效, 是方中主要药味。环烯醚萜类成分马钱子苷作为山茱萸中的主要成分, 具有免疫调节、抗休克等作用^[1-2]。因此本实验采用 HPLC 法测定金匱肾气丸中马钱苷。该方法的结果准确, 重现性好, 快速简便, 可作为金匱肾气丸质量标准的定量方法。

1 仪器与材料

Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公

司)。马钱苷对照品(批号 111640-200604)购自中国药品生物制品检定所; 金匱肾气丸为自制大蜜丸, 6 g/丸, 批号分别为 100612、100617、100622; 乙腈、甲醇均为色谱纯, 水为纯净水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Agilent XDB C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-乙腈-0.1%磷酸 (10:10:80); 检测波长: 236 nm; 体积流量: 1.0 mL/min。理论塔板数按马钱苷峰计算应不低于 4 000。

2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品溶液的制备 取马钱苷对照品适量, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加 50%甲醇制成

收稿日期: 2011-07-21

作者简介: 张平, 男, 药学博士, 总工程师, 研究方向为药物研究。Tel: (022)27020901 E-mail: zhongxinyuan790125@hotmail.com

20 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取金匱肾气丸, 剪碎, 取约 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 25 mL, 密塞, 称定质量, 超声提取 30 min, 放冷, 再称定质量, 用 50% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过。精密量取续滤液 10 mL, 置中性氧化铝柱 (100~200 目, 4 g, 内径 1 cm, 干法装柱) 上, 用 40% 甲醇约 50 mL 洗脱, 洗脱液蒸干, 残渣用 50% 甲醇溶解, 并转移至 5 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.3 阴性样品溶液的制备 按处方比例及生产工艺, 自制缺山茱萸药材的阴性样品, 按供试品溶液的制备项下方法操作, 即得。

2.3 标准曲线的制备

精密称取马钱苷对照品 5.25 mg, 置 25 mL 量

瓶中, 加 50% 甲醇至刻度, 摇匀, 得 210 $\mu\text{g/mL}$ 马钱苷对照品储备液。精密移取马钱苷对照品储备液, 配制成 105、42、21、10.5、4.2 $\mu\text{g/mL}$ 马钱苷对照品溶液。取马钱苷对照品储备液以及各对照品溶液注入高效液相色谱仪, 进样测定。以进样量为横坐标, 相应的峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 以最小二乘法计算得标准曲线 $Y = 127\,615.57 X + 368.08$ ($r = 0.999\,8$), 结果显示马钱苷在 0.042~2.100 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.4 专属性试验

取马钱苷对照品溶液、金匱肾气丸供试品溶液和缺山茱萸的阴性样品溶液, 按以上色谱条件分别进样, 见图 1。结果在与对照品相对应的色谱峰处无干扰峰出现。说明在本实验条件下, 样品中的其他成分不干扰马钱苷的测定。

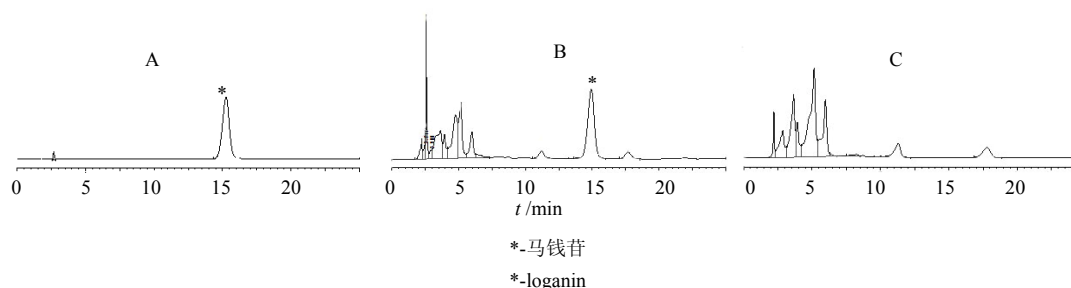


图 1 马钱苷对照品 (A)、金匱肾气丸 (B) 和缺山茱萸的阴性样品 (C) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of loganin reference substance (A), Jinkui Shenqi Pills (B), and negative sample without *Corni Fructus* (C)

2.5 精密度试验

取金匱肾气丸 (批号 100612) 适量, 制备供试品溶液, 按以上色谱条件重复进样 6 次, 测定马钱苷的峰面积, 计算得其 RSD 为 0.79%。

2.6 稳定性试验

取金匱肾气丸 (批号 100612) 供试品溶液, 按以上色谱条件分别在 0、2、4、6、8、10、12 h 进样测定马钱苷峰面积, 计算得其 RSD 为 1.13%。结果表明, 供试品溶液在 12 h 内基本无变化, 稳定性良好。

2.7 重现性试验

精密称取金匱肾气丸 (批号 100612) 样品 6 份, 制备供试品溶液, 测定马钱苷峰面积, 并计算马钱苷的质量分数, 结果马钱苷平均质量分数为 0.41 mg/g, RSD 为 1.22%。

2.8 加样回收率试验

称取金匱肾气丸样品 (批号 100612) 6 份, 每份约 0.5 g, 精密加入马钱苷对照品 0.210 mg, 制备供试品溶液, 测定马钱苷峰面积并计算回收率, 结果平均回收率为 98.84%, RSD 为 0.83%。

2.9 样品测定

取 3 批金匱肾气丸, 制备供试品溶液。精密吸取金匱肾气丸供试品溶液和马钱苷对照品溶液 10 μL , 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图, 按外标法以峰面积计算样品中马钱苷的质量分数。见表 1。

表 1 金匱肾气丸中马钱苷的测定结果 ($n=2$)

Table 1 Determination of loganin in Jinkui Shenqi Pills ($n=2$)

批 号	马钱苷/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
100612	0.41
100617	0.39
100622	0.45

3 讨论

制备供试品溶液时,使用50%甲醇提取后直接进样测定,供试品溶液的色谱中杂质峰较多,分离不佳,影响测定结果。使用中性氧化铝柱进行处理,可以去除大部分杂质。

对比其他报道中马钱苷的测定方法^[1],前处理过程中未使用中性氧化铝除杂,供试品溶液的色谱图中杂质峰较多,分离度不佳,基线漂移较明显。实验中使用的前处理方法,减少了色谱图中杂质峰数量,且基线较平稳,马钱苷峰分离度更高,重现性好。

采用甲醇-乙腈-0.1%磷酸(10:10:80)、四氢呋喃-甲醇-乙腈-0.05%磷酸(1:4:8:87)、乙腈-0.05%磷酸(10:90)为流动相^[3-5]进行试验,结果甲醇-乙腈-0.1%磷酸(10:10:80)的分离效果最佳,保留时间适中,故选为流动相。

使用不同的十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂的色谱柱进行测定,如Agilent SB-Aq C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Phenomenex Luna C₁₈(250 mm×

4.6 mm, 5 μm),色谱峰峰型和分离度均良好,测定结果不受影响,证明本方法耐用性良好。

通过方法学考察,本实验建立了高效液相色谱法测定金匱肾气丸中马钱苷的方法,并且本方法简便易行,所得结果准确,重现性好,可作为金匱肾气丸质量标准的定量方法。

参考文献

- [1] 李文兰,赵 稷,王晓冬,等. HPLC 法测定金匱肾气丸中马钱苷、芍药苷的含量 [J]. 哈尔滨商业大学学报:自然科学版,2008,24(2): 12-15.
- [2] 李文兰,任晓蕾,赵 稷,等. 均匀设计法优选金匱肾气丸中苷类成分的提取工艺 [J]. 中草药,2008,39(2): 199-202.
- [3] 潘 莹,郭小龙,陈 勇,等. HPLC 法测定杞菊地黄丸中马钱苷、芍药苷和丹皮酚的含量 [J]. 中国药科大学学报,2007,38(02): 133-135.
- [4] 曹 岗,邵玉蓝,张 云,等. 山茱萸中马钱子苷的研究进展 [J]. 现代药物与临床,2009,24(5): 272-275.
- [5] 陈 晖. RP-HPLC 测定杞菊地黄丸(浓缩丸)中马钱苷含量 [J]. 中成药,2009,31(1): 154-155.

欢迎订阅《中国临床药理学杂志》

《中国临床药理学杂志》主要报道我国临床药理学及相关领域的新成果、新技术、新方法,有关临床用药的基础研究,合理用药、药物不良反应、药物相互作用、药物动力学、血药浓度监测以及有关医院药理学学科的研究成果与实践,旨在为我国广大临床药理学工作者提供一个学术交流、信息传递和了解国内外临床药理学及相关学科发展情况的窗口与平台。主要读者对象为医院药师、医师和大专院校、科研单位研究人员和临床药理学工作者。

作为一本专业特色明显的全国性期刊,本刊被收录为国家科技部“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)、国家级火炬计划项目“中国科学引文数据库来源期刊”、“中国学术期刊综合评价数据库来源期刊”,“中国期刊网”、“中国学术期刊(光盘版)”和“万方数据资源系统(China info)数字化期刊群”,并从1998年起被美国《国际药文摘》(IPA)和美国化学文摘(CA)摘录刊载。

本刊为双月刊,大16开本,64页,逢单月25日出版。每期定价8元,全年48元。邮发代号4-573,欢迎广大读者到当地邮局订阅。

杂志社地址:上海市医学院路138号290信箱 邮编:200032

电话:(021)54237256 传真:(021)64176498 E-mail:lcyx@fudan.edu.cn