

高效液相色谱法测定三两半药酒中齐墩果酸的含量

陈桂云 王泽英¹ 丁以华² 陈琴鸣(丽水 323000 丽水市药品检验所,¹ 松阳 323400 浙江省处州制药厂,² 缙云 321400 缙云县人民医院)

摘要 目的:建立三两半药酒中齐墩果酸含量测定方法。方法:HPLC法,以 Hypersil(4.6×250mm,5μm)为色谱柱,甲醇-水(90:10)为流动相,检测波长为220nm。结果:齐墩果酸测定线性范围为9.6~48.0μg/ml($r=0.9998$),平均回收率为98.5%。结论:该法简便,可用于测定三两半药酒中齐墩果酸的含量。

关键词 齐墩果酸;三两半药酒;高效液相色谱法

Determination of oleanolic acid in Sanliangban Yaojiu by HPLC

Cheng Guiyun(Chen GY), Wang Zeying(Wang ZY), Ding Yihua(Ding YH), et al(Lishui Institute for Drug Control, Lishui 323000)

ABSTRACT OBJECTIVE:To develop a method for the determination of oleanolic acid in Sanliangban Yaojiu. **METHOD:**HPLC was employed. The column was Hypersil ODS(4.6×250mm,5μm), the mobile phase was methanol-water(90:10), and the detection wavelength was 220nm. **RESULTS:**The linear range was from 9.6 to 48.0μg/ml($r=0.9998$), and the average recovery was 98.5%. **CONCLUSION:**The method is simple for the determination of oleanolic acid in Sanliangban Yaojiu.

KEY WORDS oleanolic acid, Sanliangban Yaojiu, HPLC

三两半药酒是由牛膝、黄芪、当归等精制而成。牛膝为该制剂的主药之一,而牛膝的主要活性成分为齐墩果酸。齐墩果酸具有抑菌、保肝、护肝、升白细胞、增强机体免疫功能的作用^[1]。药典上未对该制剂的有效成分的含量进行测定。近年来用HPLC法测定一些中药材或简单制剂中的有效成分较多^[2-4]。本文采用高效液相色谱法,测定该复方制剂中齐墩果酸的含量,结果满意。

1 仪器与试剂

SP高效液相色谱仪,配有8810泵,200UV检测器,N2000数据工作站。齐墩果酸对照品(中国药品生物制品检定所,供含量测定用,批号为0709-9803),试剂除甲醇为色谱纯外,其它均为分析纯,水为重蒸馏水。

2 色谱条件

Hypersil ODS柱(4.6×250mm,5μm,大连物化所),流动相:甲醇-水(90:10),流速:0.8ml/min,检测波长:220nm,灵敏度:0.05AUFS,温度:室温。

3 检测波长的选择

经紫外扫描,齐墩果酸的最大吸收为208nm,为降低信噪比,选择220nm为检测波长。

4 实验方法

4.1 标准贮备液的配制

精密称取105℃干燥至恒重的齐墩果酸对照品约4.8mg,用甲醇定容至10ml,摇匀后作为贮备液。

4.2 标准曲线的绘制

精密量取上述标准贮备液0.2、0.4、0.6、0.8和1.0ml分别置于10ml量瓶中,用甲定容后摇匀,各进样20μl,以峰面积

Y为纵坐标,进样量X为横坐标绘制标准曲线,回归方程为: $Y=40137.5X+1140.2$, $r=0.9998$,进样量在0.192~0.960μg范围内线性关系良好。

4.3 精密度试验

精密吸取48.0μg/ml齐墩果酸对照品溶液20μl,,重复进样6次,测定峰面积。RSD=0.4%。

4.4 重现性试验

取同批号的样品6份,按样品测定项下方法操作,测定峰面积。RSD=2.2%。

4.5 加样回收试验

精密吸取已测得齐墩果酸含量的样品6份,精密加入44g/ml的齐墩果酸对照品溶液0.8ml,按样品测定项下的步骤操作,计算回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果/批号991212

| 制剂中齐墩果酸量/μg | 加入齐墩果酸量/μg | 测得齐墩果酸量/μg | 回收率/% | 平均回收率/% | RSD/% |
|-------------|------------|------------|-------|---------|-------|
| | | 49.32 | 99.1 | | |
| | | 48.61 | 97.7 | | |
| 14.57 | 35.20 | 49.51 | 99.5 | 98.5 | 1.8 |
| | | 49.22 | 98.9 | | |
| | | 47.46 | 95.4 | | |
| | | 49.91 | 100.3 | | |

4.6 样品的测定

精密吸取样品50ml置于烧瓶中,加盐酸2ml,加热回流1小时使水解,用石油醚(60~90℃)40ml分三次提取,合并石

油醚提取液,蒸干,残渣用甲醇定容于10ml量瓶中,摇匀,滤过,进样20 μ l,用外标法计算含量,结果见表2。样品及阴性对照液色谱图见图1。

表2 样品测定结果

| 批号 | 厂家 | 含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ |
|--------|---------|--------------------------------------|
| 990802 | 浙江龙泉制药厂 | 7.23 |
| 990803 | 浙江龙泉制药厂 | 9.76 |
| 990804 | 浙江龙泉制药厂 | 9.84 |
| 980220 | 浙江处州制药厂 | 1.30 |
| 980420 | 浙江处州制药厂 | 1.50 |
| 991212 | 浙江处州制药厂 | 2.91 |
| 991227 | 浙江处州制药厂 | 2.64 |
| 991229 | 浙江处州制药厂 | 6.85 |

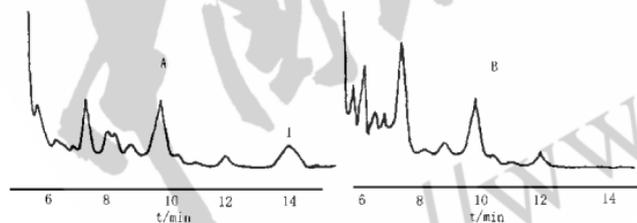


图1
A- 供试品;B- 阴性对照品;1- 齐墩果酸

5 讨论

5.1 三两半药酒处理时,曾以氯仿、石油醚分别直接提取,结果未发现齐墩果酸峰,可见制剂中所含齐墩果酸常以苷的形式存在。

5.2 齐墩果酸是一种水不溶性物质,在氯仿中的溶解度最大。三两半药酒经水解后,以氯仿、石油醚分别提取,结果显示氯仿的提取成分多,齐墩果酸峰不能完全分离。以石油醚提取为佳。

5.3 不同厂家,不同批号的样品中齐墩果酸含量有所不同,可能与药材的产地有关,有待于进一步研究。

参考文献

- 1 卫生部药品标准.二部.第三册.
- 2 吕曙华,王强,夏光成,等.中药女贞子中齐墩果酸、熊果酸的高效液相色谱分析.药物分析杂志,1993,13(5):291.
- 3 欧阳臻,潘金火.反相高效液相色谱法测定败酱片中齐墩果酸的含量.中国医院药学杂志,1998,18(5):221.
- 4 王玉萍,朱兆仪,王春兰,等.椴木属植物总皂苷和齐墩果酸的含量测定.中国中药杂志,1998,23(7):518.

收稿日期:2000-02-16