

HPLC法测定补肾强身胶囊中原儿茶酸的含量

余中霞, 丁金有, 郑露盼*, 江 锐, 方文超, 龚平双, 徐 鹏

(上饶市检验检测认证院, 上饶 334000)

摘要: **目的** 建立高效液相色谱法(HPLC)测定补肾强身胶囊中原儿茶酸的含量。**方法** 采用HPLC法测定, Agilent 5TC-C18(2) (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 检测波长为 260 nm; 流速为 1.0 mL/min; 进样量为 10 μL; 流动相为乙腈-0.5% 磷酸溶液(3:97); 柱温为 30°C。**结果** 原儿茶酸在 1.07~21.41 μg/mL 的浓度范围内线性关系良好($r^2=0.9998$); 精密度、稳定性、重复性试验结果的相对标准偏差(RSD)均小于 2.0%; 平均加样回收率($n=6$)为 92.2% (RSD=0.8%)。**结论** 该研究建立的补肾强身胶囊中原儿茶酸的含量测定方法准确可靠, 重复性好, 可为补肾强身胶囊的质量控制提供参考。

关键词: 高效液相色谱法; 补肾强身胶囊; 原儿茶酸

0 引言

补肾强身胶囊由淫羊藿、女贞子(制)、金樱子、狗脊(制)和菟丝子五味药组成。处方中狗脊为蚌壳蕨科植物金毛狗脊 *Cibotium barometz* (L.) J. Sm. 的干燥根茎, 具有祛风湿、补肝肾、强腰膝功效, 用于治疗风湿痹痛、腰膝酸软、下肢无力^[1]。现有的文献报道关于补肾强身片胶囊中淫羊藿、女贞子的药效成分研究较多^[2-4], 鲜有对制剂中狗脊研究的报道。狗脊的化学成分主要包括糖及糖苷类、芳香族类、酚酸类、黄酮类、甾体类、无机元素、氨基酸类、吡喃酮类^[5], 其中酚酸类^[6-8]为狗脊的主要化学成分。有研究表明原儿茶酸为主要活性成分^[9-11], 具有改善高血脂症^[12]、急性肾损伤^[13]、抑菌^[14-15]等作用。因此, 本文建立 HPLC 法测定补肾强身胶囊中原儿茶酸的含量, 为补肾强身胶囊中制狗脊质量控制提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器

Agilent 1260 高效液相色谱仪^[16](美国安捷伦公司); KQ-600E 超声波清洗器(昆山美美超声仪器有限公司); Techcomp FA2204B 万分之一电子天平; Sartorius BT25S 十万分之一电子天平。

1.2 试剂与试料

对照品原儿茶酸(中国食品药品检定研究院, 批号:

110809-202207, 含量以 97.5% 计)。11 批补肾强身胶囊样品来源于 2024 年江西省药品探索性研究项目抽样, 涉及 5 家企业 5 个省, 分别为安徽、贵州、四川、吉林和陕西。甲醇、冰醋酸均为分析纯, 乙腈为色谱纯, 水为超纯水。

1.3 溶液的制备

1.3.1 对照品溶液的制备

精密称取原儿茶酸对照品适量, 加甲醇溶解并稀释成质量浓度为 0.1071 mg/mL 的溶液, 作为对照品母液。精密量取对照品母液 1 mL 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇-1% 冰醋酸溶液(70:30)稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。

1.3.2 供试品溶液的制备

精密称取样品 1.0 g, 加甲醇-1% 冰醋酸溶液(70:30)溶液 25 mL 超声处理(功率 250 W, 频率 40 kHz) 30 min, 放冷, 称定重量, 用甲醇-1% 冰醋酸溶液(70:30)溶液补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液^[17], 即得。

1.3.3 阴性样品溶液的制备

取缺狗脊的其他药材, 按处方工艺制备阴性样品, 再按 1.3.2 制备阴性对照溶液^[18]。

1.4 色谱条件

流动相: 乙腈-0.5% 磷酸溶液(3:97); 流速: 1.0 mL/min; Agilent 5TC-C18(2) 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 柱温: 30°C; 进样量: 10 μL; 检测波长: 260 nm。

基金项目: 上饶市市级科技计划医疗卫生领域第一批指导性项目(20241CZDX05)

第一作者: 余中霞, 主管药师, 研究方向为药物分析。

* **通信作者:** 郑露盼, 助理工程师, 研究方向为食品药品质量标准研究。E-mail: 1793231701@qq.com

2 结果与分析

2.1 方法学考察

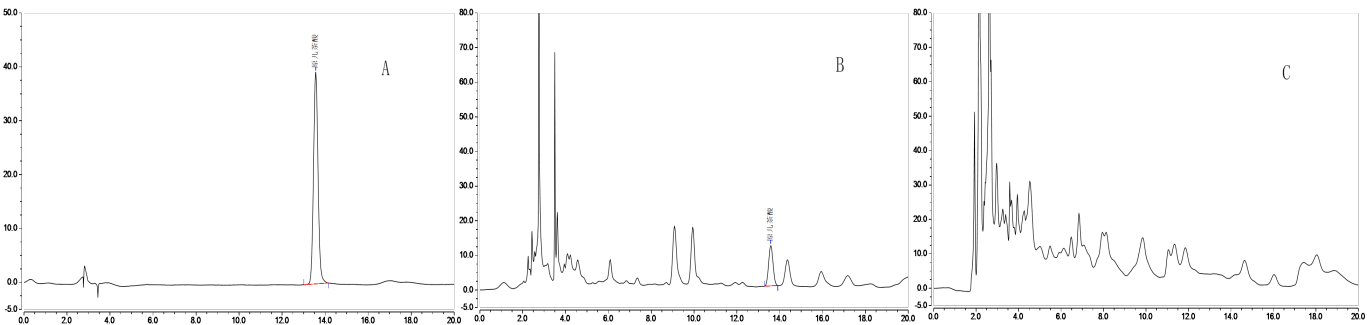
2.1.1 专属性试验

分别取 1.3 项下的三种溶液各 10 μL，注入液相色谱仪，在 1.4 项下条件测定，供试品溶液中原儿茶酸与对照品溶液主峰的

保留时间一致，且阴性样品溶液无干扰，结果见图 1。

2.1.2 线性关系考察

精密量取 1.3.1 项下的对照品储备液适量，稀释成原儿茶酸质量浓度分别为 1.07、2.14、5.35、10.71、21.41 μg/mL 的溶液，按 1.4 项下测定峰面积，以峰面积为纵坐标，以质量浓度为横坐标，得回归方程为 $y=0.4452x+0.0589$ ， $r^2=0.9998$ 。



A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照溶液

图 1 高效液相色谱图

2.1.3 精密度试验

取 1.3.1 项下对照品溶液，在 1.4 项下连续测定 6 次，记录色谱图。测得原儿茶酸的峰面积为 9.896、9.816、9.936、9.828、9.896、9.855，RSD 为 0.5%，表明仪器精密度良好。

2.1.4 重复性试验

按照 1.3.2 项下平行制备 6 份供试品溶液，在 1.4 项下测定原儿茶酸含量^[17]，计算 RSD 为 0.7%，表明方法重复性良好。

2.1.5 稳定性试验

取同一供试品溶液，在室温放置每间隔 4 h 按 1.4 项下方法测定并记录原儿茶酸峰面积^[17]，计算 RSD 为 0.8%，结果显示供试品溶液 24 h 内稳定。

2.1.6 加样回收率试验

精密称取内容物 1.0 g(批号：20221203，含原儿茶酸为 49.39 μg/粒)，分别加入原儿茶酸对照品溶液(10.71 μg/mL) 7 mL，再按 1.3.2 节方法制备，测定并计算回收率，见表 1，结果表明该方法的回收率良好。

2.1.7 供试品的含量测定

分别称取不同产地的补肾强身胶囊内容物 1.0 g，按照 1.3.2 项下方法制备，测定并计算原儿茶酸的含量，结果见表 2。根据含量测定结果可知，不同厂家的补肾强身胶囊中原儿茶酸的含量差异比较大，可能与狗脊药材的产地、等级、制剂工艺以及辅料的不同等各方面的影响。

表 1 原儿茶酸回收率

取样量(g)	测定量(μg)	原有量(μg)	加入量(μg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
0.5024	148.32	79.63	74.97	91.62	92.2	0.8
0.5049	149.21	80.03	74.97	92.28		
0.5011	148.54	79.43	74.97	92.18		
0.5032	149.18	79.76	74.97	92.60		
0.5027	149.64	79.68	74.97	93.32		
0.5014	147.94	79.47	74.97	91.33		

表 2 11 批胶囊中原儿茶酸的含量 (μg/粒)

序号	产地	批号	原儿茶酸(μg/粒)
1	安徽	2210312	15
2	贵州	20221203	49
3	四川	2309003	76
4	贵州	20221202	54

续表

序号	产地	批号	原儿茶酸(μg/粒)
5	四川	2304001	54
6	贵州	20221204	53
7	安徽	2311212	12
8	吉林	231106	38
9	陕西	20231103	124
10	四川	2212003	60
11	吉林	230902	37

3 讨论与结论

3.1 提取方法的考察

提取溶剂考察了用 30% 甲醇、30% 乙醇、甲醇-1% 冰醋酸溶液(70 : 30)和乙醇-1% 冰醋酸溶液(70 : 30); 提取方法考察了水浴、超声和振摇; 提取时间考察了 10、20、30、40 min。结果采用加甲醇-1% 冰醋酸溶液(70 : 30)溶液, 超声处理(功率 250 W, 频率 40 kHz) 30 min 提取方法最简便、完全。

3.2 色谱条件优化

流动相考察了甲醇-0.5% 磷酸溶液、甲醇-1% 冰醋酸^[6]和乙腈-0.5% 冰醋酸溶液等, 柱温比较了 25、30、35℃, 最终确定流动相为乙腈-0.5% 磷酸溶液; 流速为 1.0 mL/min; 柱温为 30℃ 时为最佳。

3.3 结论

本研究建立了 HPLC 法测定补肾强身胶囊中原儿茶酸的含量, 该方法简便, 灵敏度高, 准确度高, 实用性强。为药品监管部门掌握制剂质量提供了科学依据, 并为补肾强身胶囊的质量标准提升提供参考。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2020 年版. 北京:中国医药科技出版社, 2020:235.

[2] 车爽,周军,关鑫. UPLC法测定补肾强身胶囊的 5 种活性成分及其指纹图谱分析[J]. 华西药学杂志, 2021, 36(05): 539-543.

[3] 张崇生,倪瓚,叶建晨,等. 补肾强身胶囊中 4 种黄酮苷类成分的含量测定及转移率研究[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(11): 1345-1348.

[4] 张鹏程,张崇生,倪瓚. HPLC法评估补肾强身胶囊中酒女贞子的质量[J]. 中成药, 2020, 42(11): 2970-2973.

[5] 郭忠静,李恩念,赵志敏,等. 狗脊化学成分、药理作用及质量控制的研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 2024, 35(01): 152-157.

[6] 黄燕明,李雪银,陈桂生,等. HPLC法同步测定烫狗脊标准汤剂指纹图谱及原儿茶酸含量[J]. 亚太传统医药, 2021, 17(07): 57-60.

[7] 郭忠静,徐新军,赵志敏,等. 狗脊总酚酸的提取工艺优化及抗氧化活性[J]. 中国药师, 2024, 27(01): 8-16.

[8] 程启厚,杨中林,胡永美. 狗脊化学成分的研究[J]. 中药新药与临床药理, 2024, 35(01): 152-157.

[9] 陈艳熙,于猛,戴晓月,等. 狗脊药材的化学成分表征及原儿茶酸含量测[J]. 中草药, 2023, 54(07): 2254-2261.

[10] 王然,唐庆,杨德泉,等. 高效液相色谱法测定蒸狗脊中原儿茶酸和原儿茶醛的含量[J]. 药品评价, 2022, 19(11): 652-654.

[11] 郑小丽,胡晓波,郑志昌,等. 高效液相色谱法同时测定复方赤红颗粒中没食子酸和原儿茶酸含量[J]. 中国药业, 2023, 32(06): 75-77.

[12] 陈丽媛,马有伟,戴庆,等. 原儿茶酸对高脂血症大鼠血脂代谢及MAPK通路的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2024, 22(20): 3689-3696.

[13] 王欢欢,周莉,刘册,等. 原儿茶酸对顺铂所致急性肾损伤小鼠NGAL、KIM-1、Caspase的影响研究[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2023, 24(10): 898-900.

[14] 林卫佳,张亚平,李峰,等. 原儿茶酸抑制结核分枝杆菌Rv1654 诱导肺泡巨噬细胞凋亡的机制研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2022, 38(15): 1747-1751.

[15] 芦平,刘欢,肖苗,等. 原儿茶酸对副溶血弧菌的抑菌和减毒作用[J]. 现代食品科技, 2022, 38(05): 278-285.

[16] 文志成,于远洋,崔韶婧. 补肾强身片中淫羊藿苷的含量测定[J]. 世界最新医学信息文摘, 2016, 16(46): 28-29, 32.

[17] 周琳. 炎立消片含量测定方法的改进[J]. 中国药品标准, 2008, 9(06): 459-461.

[18] 万勇,杨毅生,付志文,等. 高效液相色谱法测定清热解毒颗粒中盐酸小檗碱的含量[J]. 药品评价, 2021, 18(05): 269-272.