



# 高效液相色谱法测定生地黄和桃红四物汤中梓醇的含量

郭春燕, 白雪梅, 张万明, 王治宝, 付煜荣

(河北北方学院基础医学部化学教研室, 河北 张家口 075000)

[摘要] 目的: 利用高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)法测定生地黄和桃红四物汤中梓醇的含量。方法: 用 YWG-C18 为色谱柱, 以水-乙腈(99.4 : 0.6)为流动相测定梓醇, 检测波长为 210 nm。结果: 在所试梓醇对照品浓度 0.053 6 ~5.360 0 μg/μl 范围内线性关系良好(n=5, r=0.999 7), 生地黄加样回收率为 98.7%, RSD=0.48%; 桃红四物汤为 98.2%, RSD=1.29%。结论: HPLC 法准确可靠, 可为控制地黄和桃红四物汤质量提供检测依据。

[关键词] 生地黄; 桃红四物汤; 梓醇; 高效液相色谱法

[中图分类号] R286.0 [文献标识码] A [文章编号] 1672-1977(2004)02-0135-03

Determination of catalpol in dried rehmannia root and Taohong Siwu Decoction with high performance liquid chromatography

GUO Chun-Yan, BAI Xue-Mei, ZHANG Wan-Ming, WANG Zhi-Bao, FU Yu-Rong

(Department of Chemistry, Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei Province 075000, China)

ABSTRACT Objective: To determinate the catalpol contents in dried rehmannia root and Taohong Siwu Decoction containing rehmannia root with high performance liquid chromatography (HPLC). Methods: Catalpol was separated on a YWG-C18 column using water-acetonitrile (99.4 : 0.6) as mobile phase and detective wavelength at 210 nm. Results: The linear curve of tested catalpol concentration within the range of 0.053 6 ~5.360 0 μg/μl was ideal (n=5, r=0.999 7). The average recovery rate of the dried rehmannia root and Taohong Siwu decoction was 98.7% (RSD=0.48%) and 98.2% (RSD=1.29%) respectively. Conclusion: HPLC method is accurate and valuable for the quality control of Radix Rehmanniae and Taohong Siwu Decoction.

KEY WORDS Radix Rehmanniae; Taohong Siwu Decoction; catalpol; high performance liquid chromatography

J Chin Integr Med, 2004, 2(2): 135-137

桃红四物汤出自《医宗金鉴》, 由四物汤加桃仁、红花所组成。四物汤具有补血活血作用, 桃红四物汤将四物汤中补血滋阴的熟地黄改为凉血消瘀的生地黄, 则使原方的活血作用转变为侧重于活血凉血为主<sup>[1]</sup>。为了开展中药临床复方效应成分药物动力学的研究, 探讨中药主要单体由于中药配伍导致的变化规律, 我们以中药自身有效成分梓醇作为检测指标, 对生地黄和桃红四物汤中梓醇的含量进行了比较。

梓醇含量的测定方法有高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)法、薄层色谱-比色法等方法。HPLC 法具快速、灵敏、准确度高等优点, 因而我们选用 HPLC 法。

## 1 材料与方

1.1 仪器与试剂 高效液相色谱仪(HP1100, 美国 Agilent 公司), 微量分析天平(TG-332A, 上海天平仪器厂), 超声波清洗器(KQ-500B, 江苏省昆山市超声仪器有限公司), 梓醇对照品(中国药品生物制品检

定所)。实验中所用试剂均为分析纯。桃红四物汤方中六味中药均购自张家口中医研究院, 并按照《中国药典》(2000 年版)各单味药标准进行鉴定。

## 1.2 实验方法

1.2.1 色谱条件 参照文献<sup>[2]</sup>, 用 YWG-C18 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 10 μm), 水 : 乙腈 = 99.4 : 0.6 为流动相; 流速: 1 ml/min; 检测波长: 210 nm; 柱温: 25 °C; 进样量: 10 μl。上述色谱条件下, 理论塔板数为 7 800, 拖尾因子 T = 1.04。

1.2.2 对照品溶液的制备 精密称取梓醇对照品 26.80 mg(120 °C 干燥恒重)置 5 ml 量瓶中, 加流动相溶解稀释至刻度摇匀, 作为梓醇对照品溶液备用。

1.2.3 供试品溶液的制备 精密称取 4.50 g 生地黄和桃红四物汤药材粉末, 加 75% 乙醇 50.00 ml, 称定重量, 冷浸 4 h, 超声 30 min 放冷, 再称定重量, 用

[基金项目] 河北省科技攻关计划指导项目(No.012761154)

[作者简介] 郭春燕(1968-), 女, 硕士, 副教授。

Correspondence to: GUO Chun-Yan, Associate Professor.

E-mail: chy-guo@sohu.com

75% 乙醇补足重量, 摇匀, 过滤。

1.2.4 线性关系考察 精密吸取上述梓醇对照品溶液 10、20、50、100、200、500  $\mu\text{l}$  置 2 ml 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀。分别注入含 0.053 6、0.107 2、0.268 0、0.536 0、1.007 2、2.680 0、5.360 0  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  的对照品溶液 10  $\mu\text{l}$  进行测定。

1.2.5 精密度实验 精密吸取上述对照品溶液, 重复进样 5 次。峰面积的相对标准差 (relative standard deviation, RSD) 为 0.49%, 表明本法精密度良好。

1.2.6 重复性考察 取同一批药材样品, 按样品制备方法平行制备 5 份, 依法测定。生地黄、桃红四物汤梓醇含量 RSD 值分别为 3.02%、3.45%, 表明重现性良好。

1.2.7 回收率实验 采用加样回收率法。精密称取已知含量的生地黄和药材粉末, 分别定量加入梓醇对照品, 按照供试品溶液的制备方法操作, 依上述

色谱条件下进行测定。

1.2.8 样品测定 精密吸取上述供试品溶液稀释至合适浓度进样 10  $\mu\text{l}$ , 依上述色谱条件下进行测定, 代入回归方程计算所得含量。

## 2 结果

2.1 梓醇标准曲线 按照线性关系考察方法操作, 得梓醇对照品色谱图 (图 1) 及梓醇对照品浓度与峰面积数据 (表 1), 以峰面积 (A) 对浓度 (C) 作回归计算, 回归方程为  $A = 6.3898 \times 10^3 C - 13.4975$ ;  $r = 0.9997$ 。

2.2 回收率的测定 生地黄平均回收率为 98.70%, RSD = 0.48% ( $n = 5$ ); 桃红四物汤为 98.20%, RSD = 1.29% ( $n = 5$ ), 见表 2。

2.3 样品测定结果 生地黄中梓醇平均含量为 1.17% ( $n = 5$ ), 桃红四物汤中梓醇平均含量为 1.72% ( $n = 5$ )。结果见表 3、图 1。

表 1 梓醇对照品浓度与峰面积

Tab 1 Concentrations of control catapol and the peak area

Concentration ( $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ )	0.053 6	0.107 2	0.268 0	0.536 0	1.007 2	2.680 0	5.360 0
Peak area	327.4	614.2	1 601.4	3 691.7	7 098.1	16 462.0	34 486.3

表 2 生地黄和桃红四物汤中梓醇含量加样回收率的测定

Tab 2 Recovery of catapol in dried rehmannia root and Taohong Siwu Decoction

Group	Added (mg)	Detected (mg)	Recovery (%)	$\bar{x}$ ( $n = 5$ , %)	RSD ( $n = 5$ , %)
Dried rehmannia root	0.4	0.392 9	98.23	98.70	0.48
	0.4	0.396 9	99.22		
	0.3	0.295 2	98.40		
	0.3	0.297 5	99.17		
	0.2	0.197 0	98.50		
Taohong Siwu Decoction	0.4	0.400 6	100.15	98.20	1.29
	0.4	0.393 9	98.48		
	0.3	0.290 5	96.83		
	0.3	0.294 3	98.10		
	0.2	0.194 8	97.40		

表 3 生地黄和桃红四物汤中梓醇含量测定结果

Tab 3 Concentrations of catapol in dried rehmannia root and Taohong Siwu Decoction

Sample	Dried rehmannia root			Taohong Siwu Decoction		
	Catapol concentration (%)	$\bar{x}$ ( $n = 5$ , %)	RSD ( $n = 5$ , %)	Catapol concentration (%)	$\bar{x}$ ( $n = 5$ , %)	RSD ( $n = 5$ , %)
1	1.19	1.17	3.02	1.71	1.72*	3.45
2	1.15			1.74		
3	1.12			1.78		
4	1.18			1.62		
5	1.21			1.73		

\*  $P < 0.01$ , vs dried rehmannia root

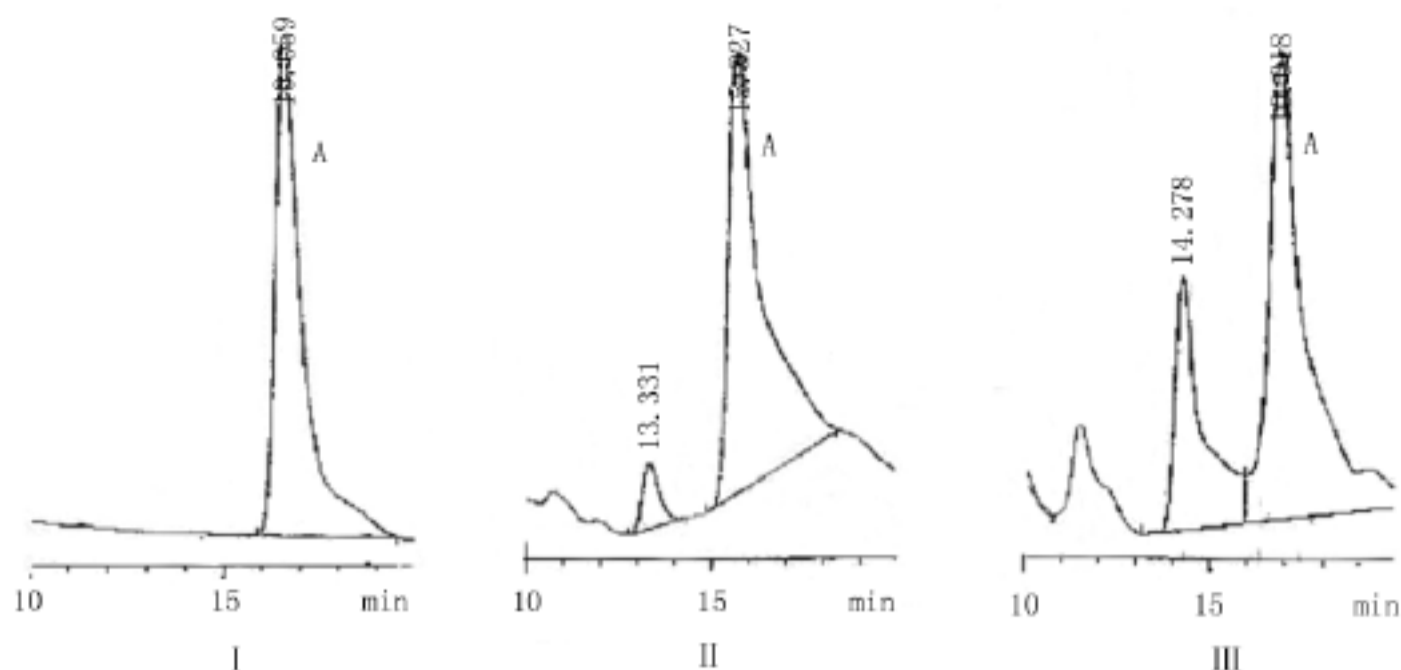


图 1 梓醇对照品( )、生地黄( )和桃红四物汤( )的 HPLC 色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of control catapol, dried rehmannia root and Taohong Siwu Decoction  
 : control catapol; : dried rehmannia root, : Taohong Siwu Decoction; A: catapol

### 3 讨论

桃红四物汤功能活血调经, 主治血瘀所致的月经不调、痛经、闭经、崩漏以及眼底出血之暴盲<sup>[3]</sup>, 现发展至用于多科疾病。梓醇为地黄及其复方中的主要有效成分之一, 因此我们选择梓醇作为质量控制标准。传统中药多用水煎, 但因梓醇热稳定性差, 所以我们采用乙醇常温超声提取。测定结果表明: 采用反相高效液相色谱法测定梓醇的含量, 方法简便, 灵敏度、精密度高, 重现性好, 可用于该方的质量控制; 桃红四物汤中梓醇含量高于生地黄 (P <

0.01), 分析其原因, 可能是桃红四物汤中含有的其他成分对目标成分有增溶作用或桃红四物汤中的其他药材也含有目标成分, 但有待进一步研究。

#### [参考文献]

- 1 周凤梧. 实用方剂学[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 1989. 658-659.
- 2 夏伦祝. HPLC 测定生地黄浓缩颗粒中梓醇的含量[J]. 安徽中医学院学报, 1999, 18(4): 51-52.
- 3 欧明. 汉英常用中医处方手册[M]. 广州: 广东科学技术出版社, 1991. 208.

[收稿日期] 2003-04-21 [本文编辑] 白玉金

(上接第 125 页)

具有升阳降浊, 清热解毒, 利湿活血, 肝胃同治的功效。方药切合 AFL 病机, 因此具有防治 AFL 的疗效。

#### [参考文献]

- 1 叶永安, 田德录, 赵凤志, 等. 慢肝消对大鼠酒精性肝损伤防护作用的研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 1996, 2(6): 32-33.
- 2 河福金, 贲长恩, 王德福. 小柴胡汤对大鼠酒精性肝损伤的防护作用[J]. 中西医结合肝病杂志, 1994, 4(3): 19-21.
- 3 江正辉, 王泰龄. 酒精性肝病[M]. 第 1 版. 北京: 中国医药科技出版社, 2001. 42, 100-101.
- 4 赵静波, 王泰龄, 张晶, 等. 大鼠急性酒精性肝损伤模型分析[J]. 中日友好医院学报, 1996, 10(1): 17-19.
- 5 李舒丹, 厉有名, 虞朝辉. 大鼠慢性酒精性肝损伤模型的建立[J]. 浙江医学, 2002, 24(9): 524-525, 530.
- 6 王新月, 孙承琳, 田德禄, 等. 解酒口服液对小鼠酒精性肝损伤的

- 防护作用机理研究[J]. 中医杂志, 2000, 41(12): 748-750.
- 7 李育浩, 邓响嘲, 吴清和, 等. 五子衍宗丸对乙醇性肝损伤大鼠脂质代谢的影响[J]. 中国中药杂志, 1994, 19(5): 300-302.
- 8 郑淑芳, 郑纪宁, 赵淑萍, 等. 酒精中毒性肝损伤的体视学研究[J]. 河北医科大学学报, 2002, 23(2): 81-83.
- 9 Gardner CD, Kraemer HC. Monounsaturated versus polyunsaturated dietary fat and serum lipids. A meta-analysis[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1995, 15(11): 1917-1927.
- 10 李东良, 郭晓萍, 邓岚, 等. 试论酒精性肝病的病因病机及治法[J]. 中医药学报, 1996, 3(4): 9-10.
- 11 郑虎占, 董泽宏, 余靖. 中药现代药理研究与应用[M]. 第 1 版. 北京: 学苑出版社, 1998. 4316-4317.
- 12 吴葆杰. 中草药药理学[M]. 第 1 版. 北京: 人民卫生出版社, 1983. 15.

[收稿日期] 2003-06-25 [本文编辑] 白玉金