

• 科技简报 •

高效液相色谱法测定五加更年片中异秦皮定的含量

黄勇¹, 柳俊², 程国庆³, 李进才⁴ (1. 咸宁市中心医院药剂科, 湖北 咸宁 437100; 2. 湖北中医学院, 湖北 武汉 430060; 3. 咸宁市卫生学校, 湖北 咸宁 437100; 4. 咸宁市康进中药饮片有限责任公司, 湖北 咸宁 437100)

[摘要] 目的: 建立 HPLC 法测定五加更年片中异秦皮定的含量。方法: 使用 Diamonsil™ C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 以乙腈-0.1% 磷酸(20:80)为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 344 nm。结果: 在 3.05~30.5 mg·L⁻¹ 范围内, 异秦皮定的进样浓度与吸收峰分值呈良好的线性关系, $r = 0.999\ 9$, 平均回收率为 99.4%, RSD 为 0.39%。结论: 该方法简便、准确, 可用于五加更年片中异秦皮定的含量测定。

[关键词] 五加更年片; 异秦皮定; 高效液相色谱法

[中图分类号] R927.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1001-5213(2008)04-0319-02

五加更年片为补肾益脾、养血安神药。可用于治疗脾肾两虚型更年期综合征, 不良反应少。以刺五加、赤芍、当归、丹皮等中药为主要成分, 主药刺五加的有效成分为异秦皮定。为保证和提高五加更年片的质量, 本实验采用高效液相色谱法测定五加更年片中异秦皮定的含量, 操作简便、准确、重复性好, 为控制产品质量提供了依据。

1 材料

美国戴安 p680 高效液相色谱仪; 异秦皮定对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 0837-200203); 乙腈为色谱纯; 甲醇为分析纯; 水为二次纯化水。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液 精密称取异秦皮定对照品适量, 加乙腈制成每 1 mL 含 13 μg 的溶液, 即得。

2.1.2 供试品溶液 取本品适量, 研细, 取约 5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 20 mL, 称定, 超声处理 30 min, 放冷, 再称定, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 即得。

2.1.3 阴性对照液 取缺刺五加阴性空白对照供试品适量, 按“2.1.2”项下方法, 制备阴性对照液。

2.2 色谱条件及系统适用性试验 色谱柱: Diamonsil™ C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1% 磷酸(20:80); 检测波长: 344 nm; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 柱温: 30℃。分别取对照品溶液、供试品溶液、阴性空白对照溶液注入色谱仪, 记录色谱图, 见图 1。异秦皮定峰保留时间约为 13.7 min, 阴性对照色谱图在异秦皮定峰位置无干扰, 异秦皮定峰与其他组分达基线分离, 分离度不低于 1.5, 理论塔板数按异秦皮定计不低于 4 000。

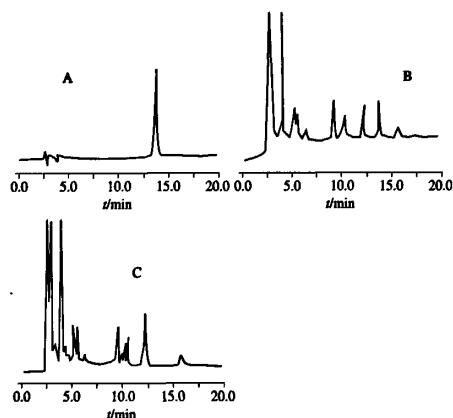


图 1 异秦皮定高效液相色谱图

A. 对照品; B. 样品; C. 阴性对照品

Fig 1 HPLC chromatogram of isofoxidin

A. reference substance; B. sample; C. negative

2.3 线性关系考察 精密称取异秦皮定对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 30.5 μg 的溶液, 分别精密吸取 1, 3, 5, 7, 10 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 制成 5 个不同浓度的标准品溶液, 分别精密吸取各浓度溶液 20 μL, 按色谱条件测定峰面积。以峰面积积分值为纵坐标, 异秦皮定的浓度为横坐标绘制标准曲线, 计算得回归方程: $Y = 0.842\ 0X + 0.094\ 45$, $r = 0.999\ 9$ 。结果表明在 3.05~30.5 mg·L⁻¹ 范围内线性关系良好。

2.4 精密度试验 精密吸取上述对照品溶液, 重复进样 6 次, 异秦皮定的峰面积的 RSD 为 0.22%。

2.5 稳定性试验 取配制好的供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 进行测定, 结果 RSD 为 0.23%, 说明该样品溶液在 10 h 内稳定。

2.6 重复性试验 取同一批号的样品照“2.1.2”项下方法制备 5 份供试品溶液进行测定, 结果 RSD 为 0.22%。

2.7 回收率试验 取已知含量(批号 050301, 含量为 71.68 μg·g⁻¹) 6 份, 各约 4 g, 再精密称取异秦皮定对照品, 用甲醇制成每 1 mL 含异秦皮定 16.26 μg 溶液, 分别精密吸取 10 mL 加入 6 份样品中。按“2.1”项下方法制备供试品溶液, 分别测定, 以峰面积计算, 结果见表 1。

表 1 回收率测定结果

Tab 1 Results of recovery test

测得量 /g	样品含量 /μg	加入量 /μg	测得量 /μg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
4.012 7	287.63	162.6	448.59	99.0		
4.077 6	292.28	162.6	453.97	99.4		
4.160 4	298.22	162.6	460.16	99.6	99.4	0.39
4.115 9	295.03	162.6	457.56	100.0		
4.038 8	289.50	162.6	450.54	99.0		
4.084 0	292.74	162.6	453.97	99.2		

2.8 样品含量测定 精密吸取对照品溶液和供试品溶液进行测定, 记录峰面积积分值, 按外标法计算含量, 结果见表 2。

3 讨论

五加更年片为复方制剂, 方中干扰成分众多, 样品的处理及流动相的选择很重要。在实验过程中曾参考相关文献[1, 2]

表 2 样品含量测定结果($n=5$)Tab 2 The results of sample determination($n=5$)

批号	含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD/%
050301	71.68	0.22
050302	70.56	0.47
050303	69.20	0.59

报道,选择的流动相包括乙腈-水(20:80)、甲醇-水(30:70)、乙腈-0.1%磷酸(15:85)和乙腈-0.1%磷酸(20:80)。结果表明,用乙腈-0.1%磷酸(20:80),在波长 344 nm 的条件下,异秦皮定峰形较好,且与其他组分达到基线分离。

参考文献:

- [1] 潘海峰,李云霞. HPLC 法测定强力宁片中异秦皮定的含量[J]. 中草药, 2004, 35(3): 279-280.
- [2] 谢东,温尚开. HPLC 法测定消炎灵片中异秦皮定的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2001, 7(5): 4-5.

[收稿日期] 2007-04-17

不同厂家灯盏花素片体外溶出度考察

李正翔,丁润芳 (天津医科大学总医院,天津 300052)

[摘要] 目的:建立灯盏花素片中野黄芩苷的含量测定方法,并比较国内 4 个厂家生产的灯盏花素片的体外溶出度。方法:采用高效液相色谱法和浆法进行测定。根据威布尔函数用 Excel 2003 拟合直线,提取溶出参数并进行统计分析。结果:45 min 时 4 个厂家灯盏花素片的累计溶出百分率分别为 96.33%, 97.21%, 94.61%, 98.99%; 主要溶出度参数: A 厂: $T_{50} = (11.7 \pm 2.4) \text{ min}$, $T_d = (15.6 \pm 3.3) \text{ min}$; B 厂: $T_{50} = (4.0 \pm 1.1) \text{ min}$, $T_d = (6.3 \pm 1.3) \text{ min}$; C 厂: $T_{50} = (3.4 \pm 1.0) \text{ min}$, $T_d = (5.8 \pm 2.6) \text{ min}$; D 厂: $T_{50} = (8.6 \pm 2.6) \text{ min}$, $T_d = (10.84 \pm 3.27) \text{ min}$ 。结论:本实验建立的 HPLC 法可用于灯盏花素片中野黄芩苷的含量测定,各厂产品的溶出参数 T_{50} 、 T_d 差异有极显著性($P < 0.01$),同一药厂不同批次间差异也存在极显著性($P < 0.01$)。

[关键词] 灯盏花素片;高效液相色谱法;溶出度**[中图分类号]** R943 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1001-5213 (2008)04-0320-03

灯盏花又名灯盏细辛,为菊科飞蓬属植物短葶飞蓬[E-rigeron breviscapus (Vant.) Hand.-Mazz.]的全草。临床主要用于治疗心脑血管病、肾病、急性面神经炎、肺心病、糖尿病及其并发症、慢性乙型肝炎、老年性痴呆症等。此外,灯盏花或其制剂对治疗眩晕、耳聋、偏头痛、干燥综合征等也有一定的疗效。

目前,全国获得灯盏花素片剂生产批准文号的企业较多,但各厂家制剂的辅料和生产工艺不尽相同,质量各异,而且临床反映不同厂家的产品疗效似有一定的差异,本实验采用 HPLC 法对 4 个厂家灯盏花素片的含量及体外溶出度进行测定,以期能对不同厂家灯盏花素片的质量作出客观性的评价,为临床安全、合理用药提供参考。

1 材料

高效液相色谱仪(Waters 2690, Separations Module, UV

检测器), ZRS-4 智能溶出试验仪(天津大学无线电厂); UV-260 紫外可见分光光度计(日本岛津公司);野黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110842-200403,含量: 97.12%);灯盏花素片(A 厂:广东彼迪药业有限公司,规格: 20 mg/片,批号 20051001, 20050901, 20050801, 编号分别为 A₁、A₂、A₃; B 厂:云南植物药业有限公司,规格: 20 mg/片,批号 20040903, 20040402, 20041101, 编号分别为 B₁、B₂、B₃; C 厂:湖南康普制药有限公司, 20 mg/片,批号 050801, 050802, 051001, 编号分别为 C₁、C₂、C₃; D 厂:广东环球制药有限公司,规格: 40 mg/片,批号 050203, 050401, 051001, 编号分别为 D₁、D₂、D₃);甲醇、乙腈均为色谱纯;异丙醇、冰乙酸均为分析纯;水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Kromasil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.5% 乙酸溶液(22:78), 检测波长: 335 nm, 柱温: 25 $^{\circ}\text{C}$, 流速: 1.2 mL · min⁻¹, 进样量: 20 μL 。

2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品储备液 精密称取干燥至恒重的野黄芩苷标准品适量,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为标准对照品储备液(377 mg · L⁻¹)。

2.2.2 样品供试液 I 号样品供试液:取灯盏花素片 10 片(批号 050802),精密称定,研细。精密称取适量(约等于平均片重),置于 50 mL 量瓶中,加入适量甲醇,超声处理 15 min,定容至刻度,摇匀,滤过,弃去初滤液,精密量取续滤液 2 mL,置于 50 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,0.8 μm 微孔滤膜滤过,弃去初滤液,取续滤液,即得。II 号样品供试液:取灯盏花素片 10 片(批号 20040402),加入 15% 异丙醇,以下提取方法同 I 号样品。

2.3 方法学考察 精密量取上述对照品储备液 0.5 mL,置于 25 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,用 UV-260 紫外可见分光光度计,在 200~400 nm 波长范围内进行紫外扫描,发现野黄芩苷在 335 nm 波长处有最大吸收,所以选择(335 ± 1) nm 作为野黄芩苷的测定波长。取该溶液 20 μL 注入高效液相色谱仪,记录色谱图,结果见图 1。由图可知,保留时间基本相同,各峰分离良好。同法测定样品溶液,结果对照品溶液和样品溶液色谱峰保留时间相同。

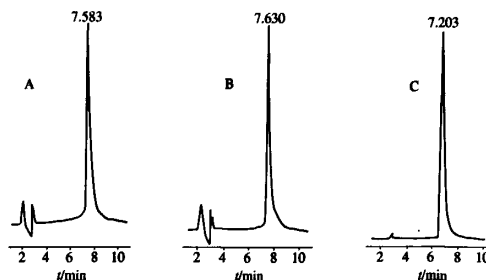


图 1 高效液相色谱图

A. 灯盏花素片对照品; B. 样品 I; C. 样品 II

Fig 1 HPLC chromatograms

A. scutellarin; B. breviscapin tablet I; C. breviscapin tablet II

2.4 线性关系考察 精密量取对照品储备液 0.4, 0.6, 1.2,