

HPLC 测定肝毒净丸中白藜芦醇苷、 岩白菜素的含量

于丽雅, 刘海艳, 李宜平*
(长春中医药大学药学院, 长春 130117)

[摘要] 目的: 建立以高效液相色谱法测定肝毒净丸中白藜芦醇苷、岩白菜素含量的方法。方法: C_{18} 柱 (4.6 mm \times 150 mm, 5 μ m), 流动相分别为乙腈-水 (20:80)、甲醇-水 (20:80), 检测波长分别为 303, 275 nm, 流速 1.0 mL \cdot min⁻¹。结果: 白藜芦醇苷在 0.121 2~0.323 2 μ g ($r=0.999 9$) 线性关系良好, 平均加样回收率 97.99%, RSD 0.69%; 岩白菜素在 0.148 5~0.396 μ g ($r=0.999 9$) 线性关系良好, 平均加样回收率 98.65%, RSD 0.92%。结论: 方法操作简便、准确、重复性好, 为肝毒净丸的质量控制提供了依据。

[关键词] 肝毒净丸; 白藜芦醇苷; 岩白菜素; 含量测定; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)22-0149-03

Determination of Polydatin and Bergenin in Gandujing Pill by HPLC

YU Li-ya, LIU Hai-yan, LI Yi-ping*

(School of Pharmaceutical Sciences, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

[Abstract] **Objective:** to build a high performance liquid chromatography on determination of the polydatin and bergenin in Gandujing Pill. **Method:** C_{18} column (4.6 mm \times 150 mm, 5 μ m), mobile phase of acetonitrile-water (20:80), methanol-water (20:80), wavelength detection at 303, 275 nm, flow rate 1.0 mL \cdot min⁻¹. **Result:** Polydatin showed a good linear relationship in the range of 0.121 2-0.323 2 μ g ($r=0.999 9$); the average recovery was 97.99% with RSD of 0.69%. Bergenin showed a good linear relationship in the range of 0.148 5-0.396 μ g ($r=0.999 9$); the average recovery was 98.65% with RSD of 0.92%. **Conclusion:** The method with good repeatability is simple and accurate, which provides a basis for quality control of the Gandujing Pill.

[Key words] Gandujing Pill; polydatin; bergenin; determination of the content; HPLC

肝毒净丸是在肝毒净颗粒基础上更改剂型制成的水丸, 在提取工艺、质量标准方面均有较大的提高。肝毒净丸是由虎杖、紫金牛 (矮地茶)、垂盆草、半枝莲、地耳草、厚朴、败酱草、紫草、贯众、片姜黄 10 味中药组成的中药复方制剂, 具有清热解毒、利湿化瘀的功效, 主要用于慢性乙型病毒性肝炎的治疗。为有效控制该制剂的质量, 对方中主要药材虎杖中的白藜芦醇苷^[1]和矮地茶中的岩白菜素^[2], 采

用高效液相色谱法进行了定量分析研究。

1 仪器与试剂

LC-10ATvp 型高效液相色谱仪 (日本岛津, 包括: LC-10ATvp 泵、CTO-10Avp 柱温箱、SPD-10Avp 紫外检测器); AUY220 型电子分析天平 (日本岛津公司), HU-3120F 型双频超声机 (重庆中谱科技有限公司)。白藜芦醇苷 (批号 1535-200102)、岩白菜素 (批号 1532-200202) 均购自中国药品生物制品检定所; 肝毒净丸 (批号 031101, 031105, 031110, 均由吉林省博维药业有限公司生产); 乙腈为色谱纯, 水为双蒸水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适应性试验 用十八烷基硅

[收稿日期] 20110920(704)

[通讯作者] *李宜平, 副教授, 从事中药资源及开发利用研究, Tel: 0431-86172201, E-mail: czdliyiping@163.com

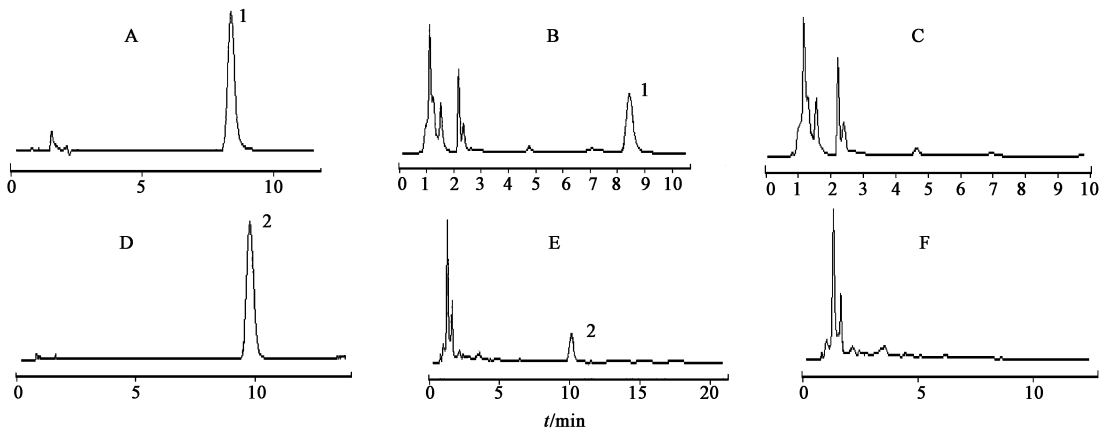
烷键合硅胶为填充柱, C_{18} 柱 (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 白藜芦醇苷以乙腈-水 (20:80) 作为流动相, 检测波长 303 nm, 柱温 30 °C, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 进样量 10 μL, 理论塔板数按白藜芦醇苷峰计算不低于 2000^[3-4]; 岩白菜素以甲醇-水 (20:80) 作为流动相, 检测波长 275 nm, 柱温 25 °C, 进样量 10 μL, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 理论塔板数按岩白菜素峰计算不低于 2000^[2,5-6]。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取白藜芦醇苷对照品、岩白菜素对照品适量, 分别加甲醇溶解制成每 1 mL 含 0.020 2 mg 的白藜芦醇苷对照品溶液、每 1 mL 含 0.024 75 mg 的岩白菜素对照品溶液, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品适量, 研碎, 取约 0.2 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇适量, 超声处理 (250 W, 25 kHz) 30 min, 取出, 放冷, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 即得。

2.2.3 阴性对照试验 按处方比例分别称取除虎杖及矮地茶以外的其余药味按制备工艺制成缺虎杖和缺矮地茶的阴性样品, 按 2.2.2 项下方法操作, 分别制备虎杖的阴性对照溶液和矮地茶的阴性对照溶液, 按照相应的色谱条件进行高效液相色谱试验, 所得阴性对照色谱图中, 在与肝毒净丸色谱图中白藜芦醇苷及岩白菜素峰的出峰位置上未出现吸收峰, 表明处方中其他药材对白藜芦醇苷及岩白菜素的含量测定无影响, 见图 1。



A, D. 对照品; B, E. 样品; C. 缺虎杖阴性样品; F. 缺矮地茶阴性样品; 1. 白藜芦醇苷; 2. 岩白菜素

图 1 肝毒净丸 HPLC

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系考察 分别精密量取白藜芦醇苷对照品溶液或岩白菜素对照品溶液 6, 8, 10, 12, 14, 16 μL, 按已拟定的色谱条件测定, 以峰面积积分值 Y 为纵坐标, 以白藜芦醇苷或岩白菜素的进样量 (μg) 为横坐标绘制标准曲线, 进行线性回归。白藜芦醇苷的线性回归方程 $Y = 677.74X - 56.227$ ($r = 0.9999$), 表明白藜芦醇苷在 0.121 2 ~ 0.323 2 μg 呈良好的线性关系。岩白菜素的线性回归方程 $Y = 271.73X - 0.0172$ ($r = 0.9999$), 表明岩白菜素在 0.148 5 ~ 0.396 μg 呈良好的线性关系。

2.3.2 精密度试验 分别精密吸取白藜芦醇苷对照品溶液 10 μL 和岩白菜素对照品溶液 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 重复进样 6 次, 计算白藜芦醇苷峰面积的 RSD 0.56%, 岩白菜素峰面积的 RSD 1.87%, 表明仪器的精密度良好。

2.3.3 稳定性试验 取同一供试品溶液, 分别在 0, 2, 4, 6, 8 h 进样 10 μL, 结果白藜芦醇苷峰面积的 RSD 0.86%, 岩白菜素峰面积的 RSD 0.73%, 表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.3.4 重复性试验 精密称取同一批供试品 6 份, 分别按 2.2.2 项下方法制备, 按 2.1 项下色谱条件测定, 测得样品中白藜芦醇苷的含量为 42.12 mg/9 g, RSD 0.58%, 岩白菜素的含量为 25.36 mg/9 g, RSD 0.62%, 表明该方法的重复性良好。

2.3.5 加样回收率试验 分别取已知含量的肝毒净丸 (批号 031101) 约 0.1 g 及 0.2 g, 各取 6 份, 精密称定。前 6 份精密加入白藜芦醇苷对照品溶液 (0.527 2 g·L⁻¹) 1 mL, 后 6 份精密加入岩白菜素对照品溶液 (0.315 8 g·L⁻¹) 1 mL, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 按照 2.1 项下色谱条件测定, 计算回收率。结果表明本品准确度较好 (表 1 ~ 2)。

表1 肝毒净丸中白藜芦醇苷加样回收率试验

No.	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	0.457 8	0.527 2	0.978 8	98.82	97.99	0.69
2	0.472 2	0.527 2	0.994 3	99.03		
3	0.493 3	0.527 2	1.007 5	97.53		
4	0.489 5	0.527 2	1.008 2	98.39		
5	0.480 7	0.527 2	0.990 6	96.72		
6	0.492 7	0.527 2	1.006 3	97.42		

表2 肝毒净丸中岩白菜素加样回收率试验

No.	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	0.270 2	0.315 8	0.579 2	97.85	98.65	0.92
2	0.298 4	0.315 8	0.609 1	98.39		
3	0.279 2	0.315 8	0.588 9	98.07		
4	0.286 0	0.315 8	0.600 8	99.68		
5	0.295 5	0.315 8	0.608 2	99.02		
6	0.283 9	0.315 8	0.596 2	98.89		

2.3.6 样品含量测定 按2.2.2项下供试品溶液的制备方法,平行测定3批次肝毒净丸中白藜芦醇苷、岩白菜素的含量。结果白藜芦醇苷含量分别为41.51,42.16,42.52 mg/9 g,岩白菜素含量分别为27.22,26.49,27.36 mg/9 g。

3 讨论

3.1 流动相的选择 参照肝毒净颗粒原标准含量测定项,进行流动相摸索,采用乙腈-水(25:75),结果白藜芦醇苷峰保留时间较短,与其他色谱峰未能

达到基线分离,而以乙腈-水(20:80),白藜芦醇苷峰能与其他色谱峰达到基线分离,确定为以乙腈-水(20:80)作为测定白藜芦醇苷含量的流动相。对岩白菜素进行流动相摸索,采用以甲醇-水(20:80),岩白菜素峰能与其他色谱峰达到基线分离,确定以甲醇-水(20:80)作为测定岩白菜素含量的流动相。

3.2 提取溶剂的选择 分别采用甲醇、50%甲醇对供试品中白藜芦醇苷和岩白菜素进行超声提取,结果表明以甲醇作为提取溶剂时测得的含量较高,因此选用甲醇为提取溶剂。

3.3 提取时间的选择 对不同提取时间进行了比较,结果超声处理30,40 min测得的含量接近,且已经能够提取完全,因此选择超声处理30 min。

[参考文献]

- [1] 肖凯,宣利江,徐明来,等.虎杖的水溶性成分研究[J].中草药,2003,34(6):496.
- [2] 中国药典.一部[S].2010:338.
- [3] 杨红美,陈波,曾建国,等.HPLC同时测定虎杖及其提取物中4种有效成分的含量[J].中国中药杂志,2006,31(3):202.
- [4] 郑虎占,董泽宏,余靖.中药现代研究与应用.第3卷[M].北京:学苑出版社,1998:2800.
- [5] 郑虎占,董泽宏,余靖.中药现代研究与应用.第5卷[M].北京:学苑出版社,1998:4551.
- [6] 潘扬,王天山,马国祥,等.RP-HPLC法测定肝毒净颗粒中岩白菜素的含量[J].中药新药与临床药理,1998,9(3):172.

[责任编辑 顾雪竹]

欢迎订阅2013年《中国中医药信息杂志》

《中国中医药信息杂志》是由国家中医药管理局主管、中国中医科学院中医药信息研究所主办的中医药学术期刊。本刊立足于行业报道的前沿,关注相关的政策动态,跟踪报道中医药重大课题,及时分析报道中医药的新政策、新技术、新发明、新成果、新疗法,努力使信息的选择与表达方式能够充分体现中医药发展水平,为广大读者提供一流的信息服务。

《中国中医药信息杂志》1994年创刊,2002年,被中国科学技术信息研究所的“中国科技论文统计源期刊”收录,成为中国科技核心期刊。随着期刊影响力的不断提升,已被波兰《哥白尼索引》、美国《化学文摘》、美国《乌利希期刊指南》、《世界卫生组织西太平洋地区医学索引》及英国《农业与生物科学研究中心文摘》、英国《全球健康》等国际检索系统收录。

《中国中医药信息杂志》是中医药行业一本独具特色的学术期刊,其内容较全面地反映了我国中医药发展水平。主要栏目有:中医动态、中医药发展论坛、专题论坛、改革与管理、中医药信息学、研究与进展、论著、实验研究、流行病学调查、质量标准研究、制剂与工艺、中药研究与开发、临床报道、专家经验、临证心得、思路与方法、中医教育、医院药学等。

《中国中医药信息杂志》为月刊,大16开国际开本,112页,国内外公开发售,每册定价10元,全年120元。国内邮发代号:82-670;国外代号:M4564。也可直接汇款至本刊编辑部订阅。地址:北京市东直门内南小街16号《中国中医药信息杂志》编辑部 邮编:100700 电话:010-64014411-3278 E-mail:Lxx@mail.cintcm.ac.cn