

反相高效液相色谱法测定 前列片中大黄素和虎杖苷的含量

于秀华*

(长春中医药大学第一附属医院, 吉林 长春 130021)

[摘要] 目的: 测定前列片中大黄素和虎杖苷的质量标准。方法: 采用反相高效液相色谱法对制剂中大黄素和虎杖苷进行含量测定。结果: 大黄素在(0.084 8~ 0.848) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 之间呈良好的线性关系; 平均加样回收率为 97.6%, RSD 为 1.9%。虎杖苷在(0.146~ 0.730) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 之间呈良好的线性关系; 平均加样回收率为 97.5%, RSD 为 1.5%。结论: 该方法灵敏、简便、准确和重复性好, 可作为该制剂的质量控制标准。

[关键词] 前列片; 反相高效液相色谱法; 大黄素; 虎杖苷

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2007)10-0006-03

前列片由虎杖、鹿茸等 6 味组成, 对于急慢性前列腺炎具有很好疗效。方中君药为虎杖, 2000 版药典采用 HPLC 法测定虎杖中大黄素的含量^[1], 2005 版药典对虎杖药材进行了修订^[2], 增加了虎杖苷的含量测定, 本实验采用反相高效液相法对制剂进行质量控制。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-2010A 高效液相色谱仪, SPD-10A

紫外可见检测器, class-vp 色谱工作站。

前列片(吉林省中医院自制); 大黄素对照品和虎杖苷对照品购于中国药品生物制品检定所; 批号分别为: 0756-200211 和 111575-200301; 甲醇、乙腈为色谱纯; 超纯水; 其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 大黄素含量测定

2.1.1 色谱条件 Diamonsil C_{18} 柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 甲醇-0.1% 磷酸溶液(82: 18)为流动相; 检测波长为 254 nm。理论板数按大黄素峰计算应不低于 3 000。

2.1.2 对照品溶液的制备 取大黄素对照品约10 mg, 精密称定为8.28 mg, 置100 mL量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密吸取5 mL置10 mL量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得(每1 mL含0.042 4 mg)。

2.1.3 供试品溶液的制备 取本品20片, 除去包衣, 精密称定, 研细, 取约0.4 g, 精密称定, 置25 mL量瓶中, 加甲醇约20 mL, 超声处理(功率100 W, 频率40 Hz) 20 min, 放冷, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 精密吸取续滤液10 mL, 置圆底烧瓶中, 蒸干, 残渣加8%盐酸溶液10 mL, 超声处理(功率100 W, 频率40

Hz) 2 min, 加氯仿10 mL, 加热回流1 h, 取出, 放冷, 置分液漏斗中, 分取氯仿层, 酸液用氯仿洗涤3次, 每次10 mL, 合并氯仿液, 蒸干, 残渣加甲醇溶解并转移至10 mL量瓶中, 摇匀, 即得。

2.1.4 空白试验 按供试品溶液制备时称样量, 折算成除虎杖以外其它药材取样量, 按制法制成样品, 再按2.1.3制成空白溶液。上述3种溶液分别进样5 μ L, 测定结果对照品、供试品溶液在相应的保留时间处有吸收峰, 而空白溶液在此相应保留时间处无吸收峰, 说明阴性无干扰, 见图1。

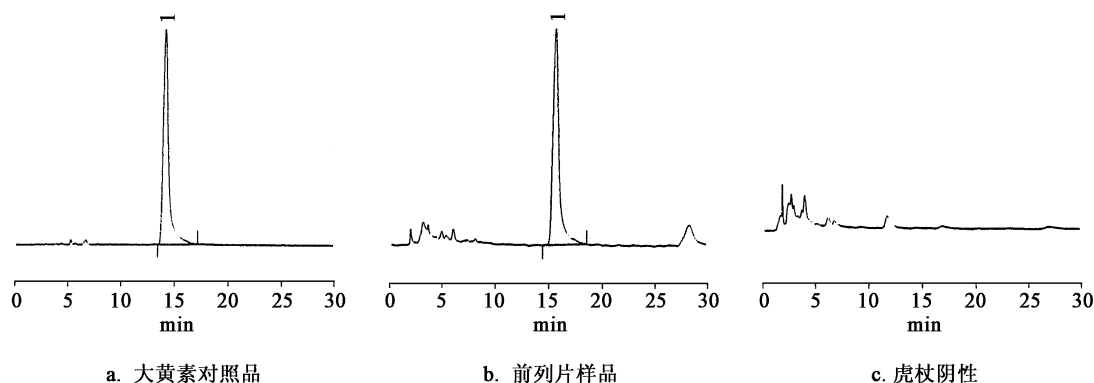


图1 大黄素试验图谱

2.1.5 线性关系的考察 分别精密吸取对照品溶液2, 5, 10, 15, 20 μ L, 注入液相色谱仪, 测定, 回归方程为 $Y = 4.14 \times 10^6 X - 1.04 \times 10^4$, $r = 0.999 9$ 。线性范围(0.084 8~ 0.848) μ g。

2.1.6 稳定性试验 供试品溶液分别在0, 2, 4, 8, 12 h进样5 μ L, 测定, 测定峰面积的相对标准偏差为0.34%。

2.1.7 精密度试验 同一供试品溶液进样5 μ L, 进样5次, 测定峰面积的相对标准偏差为0.25%。精密度很好。

2.1.8 重复性试验 取同一批号样品, 测定5次, 平均含量为0.83 mg/片; 相对标准偏差为1.30%。

2.1.9 回收率试验 取已知含量为0.77 mg/片的样品, 取约0.2 g, 精密称定, 精密加入对照品溶液, 按方法测定, 结果平均回收率为97.6%, 相对标准偏差为1.9%。

2.2 虎杖苷含量测定

2.2.1 色谱条件 Diamonsil C_{18} 柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m); 乙腈-0.05%磷酸溶液(15.5: 84.5)为流动相; 检测波长为306 nm。理论板数按虎杖苷峰计算应不低于3 000。

2.2.2 对照品溶液的制备 取以五氧化二磷为干燥剂减压干燥24 h的虎杖苷对照品约10 mg, 精密称定为14.60 mg, 置50 mL量瓶中, 加50%乙醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密吸取1 mL置10 mL量瓶中, 用50%乙醇稀释至刻度, 摇匀, 即得(每1 mL含0.029 2 mg)。(避光操作)

2.2.3 供试品溶液的制备 取前列片20片, 除去包衣, 研细, 取约0.4 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加50%乙醇25 mL, 称定重量, 超声处理(功率100 W, 频率40 KHz) 30 min, 放冷, 再称定重量, 用50%乙醇补足减失重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。(避光操作)

2.2.4 空白试验 取空白样品, 按供试品溶液的制备方法, 制成空白溶液。上述3种溶液分别进样10 μ L, 测定结果对照品、供试品溶液在相应的保留时间处有吸收峰, 而空白溶液在此相应保留时间处无吸收峰, 说明阴性无干扰, 见图2。

2.2.5 线性关系的考察 分别精密吸取对照品溶液5, 10, 15, 20, 25 μ L, 注入液相色谱仪, 测定。回归方程为 $Y = 3.29 \times 10^6 X - 697$, $r = 0.999 9$; 线性范围(0.146~ 0.730) μ g。

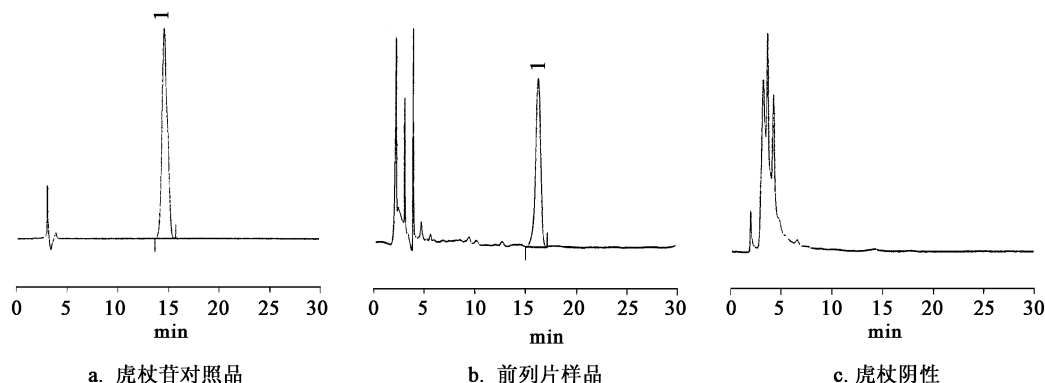


图 2 虎杖苷试验图谱

2.2.6 稳定性试验 供试品溶液分别在 0, 2, 8, 12, 24 h 进样 10 μL , 测定, 测定峰面积的相对标准偏差为 0.74%。

2.2.7 精密度试验 同一对照品溶液进样 10 μL , 进样 5 次, 测定峰面积相对标准偏差为 0.27%。

2.2.8 重复性试验 取同一批号样品, 测定 5 次, 平均含量为 1.26 mg/片; 相对标准偏差为 1.61%。

2.2.9 回收率试验 取已知含量为 2.385 6 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 的样品, 取约 0.2 g, 精密称定, 精密加入对照品溶液, 测定, 平均回收率为 97.5%, 相对标准偏差为 1.5%。

2.3 样品的含量测定 分别取 3 批样品, 按大黄素和虎杖苷方法测定样品含量, 大黄素含量分别为 0.93, 0.86, 0.74 mg/片; 虎杖苷含量分别为 1.29, 1.22, 1.12 mg/片。

4 讨论

虎杖苷提取方法的选择。根据文献报道, 甲醇

回流法含量低于超声提取法^[3], 因此采用后者。根据本制剂性质, 比较了不同提取溶剂的影响, 结果稀乙醇含量高于其他。

虎杖苷测定方法有多种, 参考中国药典中虎杖药材项下的测定条件和有关文献^[4,5], 确定流动相为乙腈-0.05% 磷酸溶液(15.5: 84.5)。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2000. 167.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005. 145.
- [3] 丛悦, 王金辉, 李锐. HPLC 法测定藜芦中虎杖苷和白藜芦醇的含量[J]. 中药研究与信息, 2005, 7(7): 16-19.
- [4] 黄亮, 刘敏敏. HPLC 法测定不同地区虎杖的虎杖苷含量[J]. 中国药师, 2006, 9(5): 408-409.
- [5] 李耿, 蔡大可, 曾宝, 等. 痹痛消膏的醇提工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(11): 6-7.