

HPLC法测定清热地黄酊中毛蕊花糖苷的含量

郭宏彦*,涂 禾,刘中均,朱力阳(四川省骨科医院,成都 610041)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)39-3703-02
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.39.20

摘要 目的:建立测定清热地黄酊中毛蕊花糖苷含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Waters Symmetry Shield C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μl),流动相为乙腈-0.1%醋酸溶液(10:90, V/V),检测波长为 334 nm,流速为 1.0 ml/min,柱温为 30 ℃,进样量为 10 μl。结果:毛蕊花糖苷质量浓度在 187.6~938.0 μg/ml 范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.9997$);精密度、稳定性、重复性试验的 RSD 均≤0.52%;平均加样回收率为 99.97%,RSD=0.28%($n=9$)。结论:该方法简单、准确、重复性好,可用于清热地黄酊中毛蕊花糖苷的含量测定。

关键词 清热地黄酊;毛蕊花糖苷;高效液相色谱法;含量测定

Content Determination of Verbascoside in Qingre Dihuang Tincture

GUO Hong-yan, TU He, LIU Zhong-jun, ZHU Li-yang(Sichuan Orthopaedic Hospital, Chengdu 610041, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for the content determination of verbascoside in Qingre dihuang tincture. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Waters Symmetry Shield C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μl) column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% acetum solution (10:90, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 334 nm and the column temperature was 30 ℃. The sample size was 10 μl. RESULTS: The linear range of verbascoside was 187.6-938.0 μg/ml ($r=0.9997$). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 0.52% with an average recovery of 99.97% (RSD=0.28%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reproducible, and can be used for content determination of verbascoside in Qingre dihuang tincture.

KEYWORDS Qingre dihuang tincture; Verbascoside; HPLC; Content determination

清热地黄酊由地黄、三七、红花、蛇床子、地肤子、苦参、樟脑、薄荷脑、冰片、血竭、人工麝香等 11 味中药组成,具有清热解毒、止痒的功效,适用于蚊虫叮咬等引起的不适症状。清热地黄酊在“5.12”汶川、“4.20”雅安大地震期间,为灾区人民及赈灾解放军作出了重要贡献。为对抗震区恶劣的自然条件,我院及时与解放军 301 医院合作研制出纯中药制剂清热地黄酊供灾区人民及解放军使用,两次地震期间的应用,确认该制剂安全、有效。本试验参考 2010 年版《中国药典》(一部)方法^[1],采用高效液相色谱(HPLC)法对清热地黄酊中地黄的活性成分毛蕊花糖苷的含量进行测定,旨在为该制剂的质量控制提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

Waters 1010 型 HPLC 仪,包括 1525 型二元梯度泵、2487 型双波长紫外检测器和 Empower 色谱数据管理系统(美国 Waters 公司);XS105 型电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司);SB3200 型超声清洗器(上海必能倍超声有限公司);AYJ1-0501-U 型艾科浦超纯水系统(重庆颐洋艾科浦发展有限公司)。

1.2 药品与试剂

清热地黄酊(四川省骨科医院自制,批号:130423、130425、

* 副主任中药师。研究方向:医疗机构制剂研发。电话:028-87050716。E-mail: 535831843@qq.com

130427);毛蕊花糖苷对照品(中国食品药品检验研究院,批号:111530-201310);乙腈为色谱纯,水为自制超纯水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Waters Symmetry Shield C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈-0.1%醋酸溶液(10:90, V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:334 nm;柱温:30 ℃;进样量:10 μl。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取毛蕊花糖苷对照品 93.8 mg,置 100 ml 量瓶中,加流动相溶解,并定容至刻度,摇匀,即得质量浓度为 938.0 μg/ml 的溶液。

2.2.2 供试品溶液 精密量取本品 20 ml,水浴蒸干,用流动相溶解,滤过,置 10 ml 量瓶中,加流动相定容至刻度,即得供试品溶液。

2.2.3 阴性对照溶液 按清热地黄酊的处方及制备工艺制备不含地黄药材的阴性样品,再按“2.2.2”项下方法制备,即得阴性对照溶液。

2.3 专属性试验

分别吸取对照液溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各 10 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定。结果显示,毛蕊花糖苷的色谱峰与其他色谱峰能达到基线分离,且保留时间与对照品溶液一致;阴性对照溶液在相同保留时间处无吸收峰,表明

其对含量测定无干扰。色谱见图1。

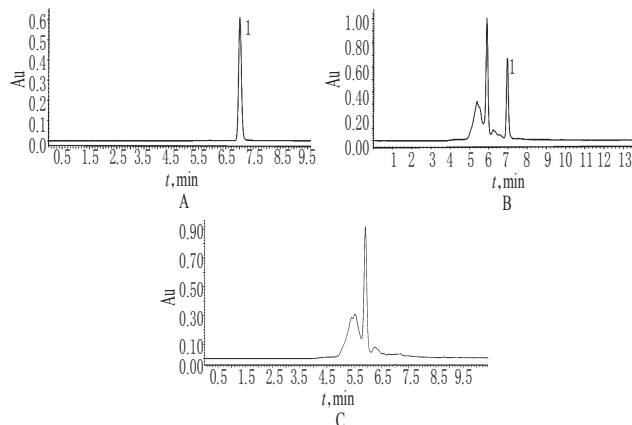


图1 高效液相色谱图

A.对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.毛蕊花糖苷

Fig 1 HPLC chromatograms

A.substance control;B.test sample;C.negative control;1.verbascoide

2.4 线性关系考察

分别精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液2、4、6、8、10 ml,置10 ml量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,按上述色谱条件进样测定。以毛蕊花糖苷的质量浓度($x, \mu\text{g/ml}$)为横坐标,以峰面积积分值(y)为纵坐标,进行线性回归,得回归方程: $y=6.23 \times 10^4 x + 4.78 \times 10^5$ ($r=0.9997$)。结果表明,毛蕊花糖苷的质量浓度在187.6~938.0 $\mu\text{g/ml}$ 范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

取同一批样品(批号:130427),按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按上述色谱条件连续进样6次,记录峰面积。结果, $RSD=0.52\%$ ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取同一供试品溶液,分别在0、1、2、4、8 h时按上述色谱条件进样测定,记录峰面积。结果, $RSD=0.46\%$ ($n=5$),表明供试品溶液在8 h内稳定。

2.7 重复性试验

取同一批样品(批号:130427),按“2.2.2”项下方法平行制备6份供试品溶液,按上述色谱条件进样测定,计算样品含量。结果,样品中毛蕊花糖苷的平均质量浓度为579.6 $\mu\text{g/ml}$, $RSD=0.47\%$ ($n=6$),表明重复性良好。

2.8 加样回收率试验

精密量取已知含量的样品(批号:130427)9份,按“2.2.1”项下方法制备成供试品溶液,分别精密加入适量的对照品,按上述色谱条件进样测定,记录峰面积,计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果($n=9$)

Tab 1 Results of recovery test($n=9$)

取样量,ml	样品含量, μg	加入量, μg	测得量, μg	加样回收率,%	$\bar{x},\%$	RSD,%
7	2 028.60	2 020.00	4 050.80	100.11		
7	2 028.60	2 030.00	4 050.90	99.62		
7	2 028.60	2 040.00	4 061.50	99.66		
10	2 898.00	2 890.00	5 791.70	100.13		
10	2 898.00	2 910.00	5 802.20	99.80	99.97	0.28
10	2 898.00	2 900.00	5 811.30	100.46		
13	3 767.40	3 770.00	7 530.50	99.82		
13	3 767.40	3 780.00	7 556.50	100.24		
13	3 767.40	3 760.00	7 522.10	99.86		

2.9 样品含量测定

取3批样品(批号:130423、130425、130427)各适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按上述色谱条件进样测定,记录峰面积,计算样品含量。结果表明,3批样品中毛蕊花糖苷的质量浓度分别为288.6、290.7、289.8 $\mu\text{g/ml}$ ($n=3$)。

3 讨论

本试验选择了2010年版《中国药典》(一部)^[1]的流动相——乙腈-0.1%醋酸溶液,并考察了几种比例的乙腈-0.1%醋酸溶液(25:75、20:80、16:84、10:90, V/V),最终选择了10:90(V/V)的比例,其出峰时间适宜,与其他杂质峰分离较完全^[2-6]。预试验中还考察了不同的柱温(28、30、35 $^{\circ}\text{C}$),结果表明,柱温对试验结果影响不大,最终本试验选择了30 $^{\circ}\text{C}$ 作为试验柱温。

综上所述,本方法简单、准确、稳定、重复性好,可用于清热地黄酊中毛蕊花糖苷的含量测定。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:116.
- [2] 霍燕娟,邓杏好.HPLC同时测定壮元益生丸中松果菊苷和毛蕊花糖苷的含量[J].中国现代药物应用,2009,3(15):14.
- [3] 康爱荣,黄毅,闫秋娟,等.高效液相色谱法测定复方肉苁蓉口服液松果菊苷与毛蕊花糖苷含量[J].医药导报,2009,28(2):231.
- [4] 华方波,张秀丽.高效液相色谱法测定养阴清肺口服液中毛蕊花糖苷的含量[J].中国当代医药,2014,21(4):15.
- [5] 莫迎.裸花紫珠制剂中毛蕊花糖苷含量测定[J].医药导报,2012,31(2):245.
- [6] 邱广仁,赵向阳.HPLC法测定咳嗽枇杷糖浆中京尼平苷酸和毛蕊花糖苷[J].安徽医药,2013,17(4):573.

(收稿日期:2014-06-13 修回日期:2014-08-29)

《中国药房》杂志——WHO西太平洋地区医学索引(WPRIM)收录期刊,欢迎投稿、订阅