

DOI:10.3724/SP.J.1008.2012.00575

反相高效液相色谱法测定肝力保胶囊中虎杖苷的含量

凌水花,王 慧,费 扬,杨 伟,张国庆*

第二军医大学东方肝胆外科医院药材科,上海 200438

[关键词] 反相高压液相色谱法;虎杖苷;肝力保胶囊

[中图分类号] R 927.11

[文献标志码] B

[文章编号] 0258-879X(2012)05-0575-02

Reversed-phase high-performance liquid chromatography in determination of polydatin contents in Ganlibao capsule

LING Shui-hua, WANG Hui, FEI Yang, YANG Wei, ZHANG Guo-qing*

Department of Pharmacy, Eastern Hepatobiliary Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200438, China

[Key words] reversed-phase high-pressure liquid chromatography; polydatin; Ganlibao capsule

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2012, 33(5): 575-576]

肝力保胶囊是我院自制制剂,由茵陈、虎杖、茯苓、黄芪及苦参碱提取物组成,用于各种急、慢性病毒性肝炎治疗,对肝癌所致肝脾肿大、肝硬化腹水等症状有辅助治疗作用。虎杖是蓼科植物虎杖(*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc)的干燥根和根茎,具有利湿退黄、清热解毒、散瘀止痛、止咳化痰功效,用于湿热黄疸、淋浊、带下、风湿痹痛、痈肿疮毒、水火烫伤、肺热咳嗽等^[1]。虎杖主要化学成分包括游离蒽醌及蒽醌苷类、白藜芦醇及虎杖苷2种芪类化合物、鞣质及黄酮类等^[2]。现代药理学研究表明,虎杖苷有保护心肌细胞和血管平滑肌细胞、抗血小板聚集、改善微循环等作用,能减轻多种因素造成的组织器官损伤,具有保护肝细胞、降血脂及抗脂质过氧化等作用。

目前测定虎杖中虎杖苷方法主要是高效液相色谱法^[3-4]。本文参考《中华人民共和国药典》(2010年版)^[5]中虎杖苷的含量测定方法,建立反相高效液相色谱法测定肝力保胶囊中虎杖苷的含量,该方法简便、专属性强、重现性好,为更好地控制肝力保胶囊质量提供科学依据。

1 仪器和试剂

1.1 仪器 Agilent 1100 高效液相色谱仪,包括在线脱气机、四元泵、自动进样器、柱温箱、二级管阵列检测器、Chemstation 色谱工作站。METTLER AE240 型电子天平。SK2200H 型超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司)。

1.2 试剂 肝力保胶囊由第二军医大学东方肝胆外科医院制剂室生产,批号:20100801,20100901,20101103,20110201,20110401,20110701,20110901,20111001;虎杖苷对照品,由中国药品生物制品检定所提供,批号:111575-200502;乙腈为色谱纯,无水乙醇为分析纯,水为超纯水。

2 方法和结果

2.1 色谱条件 色谱柱 Eclipse Plus C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相为乙腈:水=15:85;流速1.0 ml/min;检测波长306 nm;进样量5 μl;柱温25℃。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取虎杖苷对照品13.54 mg,置10 ml的棕色量瓶中,用稀乙醇定容,摇匀得浓度为1.354 mg/ml母液。精密移取母液1 ml置10 ml棕色量瓶,用稀乙醇定容,摇匀得浓度为135.4 μg/ml对照品溶液,4℃保存。

2.2.2 供试品溶液的制备 取10粒胶囊内容物混匀,精密称取0.2 g于25 ml的棕色量瓶,用稀乙醇定容,超声15 min,放冷,用稀乙醇溶液补足减少的质量,经0.45 μm微孔滤膜滤过,取滤液,即得。

2.2.3 阴性供试品的制备 以相同处方比例,按肝力保胶囊制备工艺制备不含虎杖药材的阴性样品。

2.3 方法学考察

2.3.1 系统适应性实验 按2.1项下条件,以对照品溶液、制剂样品和阴性样品溶液分别进样,根据色谱参数计算系统适应性。制剂样品中虎杖苷保留时间是20.541 min,拖尾因子1.005,理论塔板数大于5 000,分离度大于3.0。阴性样品、对照品和制剂样品HPLC色谱图见图1。

2.3.2 标准曲线及线性 配制浓度为6.77、13.54、33.85、67.7、135.4 μg/ml虎杖苷对照品,以色谱峰面积(Y)对对照品浓度(X)进行线性回归,得线性方程:Y=17.014X-15.186, r=0.999 9,表明虎杖苷在6.77~135.4 μg/ml范围内线性关系良好。

[收稿日期] 2012-02-10 [接受日期] 2012-04-23

[作者简介] 凌水花,药师. E-mail: wang_ehbh@126.com

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 021-81875571, E-mail: guoqing_zhang91@126.com

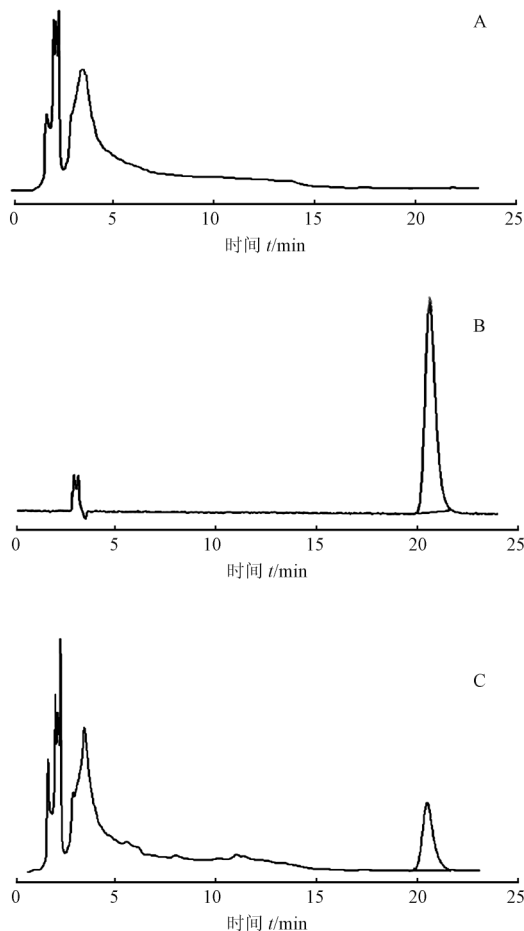


图1 阴性样品(A)、对照品(B)和制剂样品(C)HPLC 色谱图

2.3.3 精密度实验 取浓度为 33.85 $\mu\text{g/ml}$ 虎杖苷对照品溶液,在上述色谱条件下重复进样 6 次。计算虎杖苷峰面积 RSD 为 0.19%,结果表明仪器精密度良好。

2.3.4 重复性实验 取肝力保胶囊(批号:20111001),按 2.2.2 项下制备 6 份样品,按照 2.1 项下条件进样,以虎杖苷的峰面积计算相对偏差,RSD 为 1.52%,结果表明该方法重复性良好。

2.3.5 稳定性实验 对照品稳定性:取浓度为 33.85 $\mu\text{g/ml}$ 虎杖苷对照品溶液,考察室温放置 8 h 及 4 $^{\circ}\text{C}$ 放置 10 d 后,RSD 均 < 2% ($n=3$)。制剂样品稳定性:取肝力保胶囊(批号:20111001),按 2.2.2 项下制备样品,分别考察室温放置 0、2、4、8、24 h 及 4 $^{\circ}\text{C}$ 放置 3 d 后的稳定性,RSD < 2% ($n=3$)。结果表明对照品及供试品溶液在上述条件下保存稳定。

2.3.6 加样回收率实验 取肝力保胶囊(批号:20111001)9 份,精密称定,每份 0.2 g,平均分为 3 组,每组分别加入浓度为 1.354 mg/ml 的对照品溶液 0.15、0.3、0.46 ml,按 2.2.2 项下处理样品,按 2.1 项下条件进样,计算回收率,低、中、高 3 种浓度回收率分别为 97.5%、101.8%、102.5%,RSD 分别为 1.98%、2.27%、0.45%。

2.4 样品测定 按 2.2.2 项下制备供试品溶液,在上述色谱条件测定峰面积,采用外标法计算含量,结果见表 1。

表 1 8 批肝力保胶囊中虎杖苷含量测定结果

$n=3, \bar{x} \pm s, m_B / (\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$

制剂批号	含量
20100801	3.09 \pm 0.04
20100901	2.56 \pm 0.03
20101103	2.61 \pm 0.05
20110201	3.50 \pm 0.03
20110401	2.25 \pm 0.03
20110701	2.07 \pm 0.03
20110901	3.11 \pm 0.04
20111001	2.61 \pm 0.03

3 讨论

本实验对提取方法进行了考察,选用 100%、70%、50% 甲醇和相同浓度乙醇作为提取溶剂,结果显示 50% 醇溶剂是纯醇溶剂提取效率的 3 倍左右,考虑到乙醇毒性小,最终选用 50% 乙醇作为提取溶剂。本实验对回流提取与超声提取进行了比较,结果显示差别不大,考虑到超声提取简便迅速,故选择超声提取,并考察超声时间 15、30、45、60 min,结果发现超声 15 min 与其他考察时间结果相近,故选择 15 min 超声提取。

本实验比较乙腈-水、甲醇-水、甲醇-乙腈-水等不同流动相系统,含甲醇流动相对制剂中待测物质干扰大,最终选用乙腈:水=15:85,虎杖苷保留时间在 20 min 左右,且制剂中其他成分对待测峰无干扰,样品峰分离度最好,峰型最优。

所测定的 8 批肝力保胶囊中虎杖苷含量在 2.07~3.50 mg/g 之间,为制定该制剂中虎杖苷含量标准提供一定的参考依据,以便更好地控制肝力保胶囊质量。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[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: 中国医药科技出版社, 2010: 194.

[2] 王 玲, 计耀成. HPLC 法测定热炎清颗粒中虎杖苷和白藜芦醇的含量[J]. 中药导报, 2011, 17: 92-94.

[3] 郝立芳, 袁晓芳. HPLC 法测定金胆片中龙胆苦苷、虎杖苷含量[J]. 中国药师, 2011, 14: 1369-1371.

[4] 周丹丹, 赵云丽, 张艳莉, 于治国. RP-HPLC 法同时测定乙肝舒康胶囊中虎杖苷和二苯乙烯苷含量[J]. 药物分析杂志, 2008, 28: 411-413.

[本文编辑] 尹 茶