HPLC 法测定紫黄凝胶中左旋紫草素的含量

★ 张丹¹ 廖芳^{2*} 陈璐佳³ 钟华³ (1. 泸州医学院药学院 泸州 646000; 2. 成都市新都区中医医院 成都 610500; 3. 成都中医药大学 成都 611130)

摘要:目的:建立以高效液相色谱法测定紫黄凝胶中左旋紫草素的含量。方法:色谱柱为 DiamonsilTM (钻石) C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇:0.1% 磷酸溶液(85:15); 柱温为 25 ℃; 流速为 1.0 mL/min; 检测波长为 516 nm。结果: HPLC 法测定的左旋紫草素含量在 0.021 3 ~ 0.213 0 μg 范围内线性关系良好, 相关系数 $r = 0.999 8$, 平均回收率为 99.57%, $RSD = 2.29\%$ 。结论:该法操作简便、结果准确, 重现性好, 可用于本品的控制。

关键词:紫黄凝胶; 高效液相色谱; 左旋紫草素; 含量测定

中图分类号:R 284.1 **文献标识码:**B

紫黄凝胶是由紫草、大黄等药经提取加工制成的复方中药凝胶剂, 具有凉血活血、清热解毒的功效, 主要用于治疗痤疮及热毒疮疡、湿疹的凝胶型外用制剂, 在临床取得了较好效果。方中紫草具有凉血活血、解毒透疹等作用, 为该方君药。紫草主要含有以左旋紫草素为主的萘醌类化合物, 此类物质是抗炎抗菌的主要成分^[1]。为此, 本文采用了高效液相色谱法测定制剂中左旋紫草素的含量, 并制定了相应的含量测定限度, 最终建立了准确、可控的含量测定方法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 瓦里安 varian ProStar 高效液相色谱仪、BP211D 电子天平(sartorius 十万分之一)、DGG-9030 型电热恒温鼓风干燥箱(上海森信实验仪器有限公司)、真空泵(郑州长城科工贸仪器有限公司)、DL-720D 型数控超声波清洗器(上海之信仪器有限公司)。

1.2 试剂 左旋紫草素对照品(110727-200306, 供含测用, 中国药品生物制品检定所)、紫黄凝胶(080320、080325、080401, 由泸州医学院药剂教研室自制)、甲醇为色谱纯(Fisher)、水为重蒸馏水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果^[2,3]

2.1 色谱条件 色谱柱: DiamonsilTM (钻石) C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇:0.1% 磷酸溶液(85:15); 柱温: 25 ℃; 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 516 nm。进样量为 10 μL。目标峰基线分离, 阴性无干扰。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取左旋紫草素对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 10.65 μg 的溶液,

过 0.45 μm 微孔滤膜, 取续滤液备用。

2.3 供试品溶液的制备 取紫黄凝胶适量, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加入甲醇 30 mL, 称定重量, 超声提取 40 min, 放冷至室温, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 滤液水浴挥干, 残渣加甲醇溶解定容至 10 mL 量瓶中, 以 0.45 μm 滤膜滤过, 取续滤液备用。

2.4 缺紫草阴性溶液的制备 取不含紫草的阴性样品, 照 2.1.3 方法制备阴性样品溶液。

2.5 标准曲线与线性范围的考察 精密吸取左旋紫草素对照品溶液 2、6、10、15、20 μL, 依次进样, 在上述色谱条件下测定峰面积, 以峰面积(Y)对进样量 X(μg) 回归。回归方程为 $Y = 9\ 530\ 644.338\ 5X + 10878.960\ 6$, $r = 0.999\ 8$ 。由回归方程可知, 左旋紫草素进样量在 0.021 3 ~ 0.213 0 μg 范围内, 峰面积值与进样量有良好线性关系。

2.6 精密度试验 精密吸取左旋紫草素对照品溶液 6 μL, 注入液相色谱仪, 按照上述色谱条件, 重复进样 6 次, 测定峰面积, 计算精密度。 $RSD = 0.98\%$, 表明仪器精密度良好。

2.7 重现性试验 取紫黄凝胶样品(批号 080320) 6 份, 分别精密称定, 按上述制备方法及色谱条件进样, 每次 10 μL, 测定峰面积, 计算其含量, $RSD = 0.87\%$, 表明该方法重现性良好。

2.8 稳定性试验 取同一紫黄凝胶样品(批号 080320), 分别于 0、2、6、12、24 h, 按照上述色谱条件依次进样, 每次 10 μL, 测定峰面积, 考察稳定性。 $RSD = 1.84\%$, 表明供试液在 24 h 内稳定性良好。

2.9 加样回收率试验 称取已知含量(左旋紫草素含量为 51.2 μg/g) 的样品(批号 080320) 约 1 g,

* 通讯作者: 廖芳, 主管中药师, 研究方向: 中药新制剂新工艺

九气心痛丸质量标准研究

★ 高道侠 郭新强 (江西省樟树市食品药品检验所 樟树 331200)

摘要:目的:建立九气心痛丸的质量标准。方法:用 TLC 法对木香、延胡索进行了定性鉴别;用 HPLC 法测定了九气心痛丸中橙皮苷的含量,选用 Diamonsil 钻石 C₁₈ 色谱柱,流动相为甲醇-水(42:58),检测波长 284 nm,结果:TLC 检出了木香、延胡索特征斑点,橙皮苷进样量在 0.5~2.5 μg 范围内线性关系良好($r=0.9998$),加样回收率为 99.1%, $RSD=0.76\%$ 。结论:方法简便、稳定、可靠,可作为本品的质量控制方法。

关键词:九气心痛丸;质量标准;高效液相色谱法;薄层色谱法

中图分类号:R 284.1 文献标识码:B

九气心痛丸收载于《卫生部药品标准》中药成方制剂第五册。由五灵脂、高良姜、木香、石菖蒲、青皮、丁香、延胡索七味中药组成,具有理气、散寒、止痛之功效。临床用于胃脘疼痛,两肋胀痛,癥瘕积聚。目前,该品种的质量标准仅限于丸剂的检查项目,为了提高该品种的质量标准水平,对其中木香和延胡索的薄层色谱鉴别及青皮中橙皮苷的含量测定进行了研究,现报道如下。

1 仪器、药品和试剂

日本岛津高效液相色谱仪(SPD-10Avp 紫外检测器, LC-10ATvp 溶剂输送泵), UV-9501 紫外分光光度计, SB-3200 超声清洗器(功率 250 W, 频率 33 kHz), BP-2110 电子天平九气心痛丸(江西药都樟树

制药有限公司), 去氢木香内酯对照品(批号: 111525-200508, 中国药品生物制品检定所), 延胡索乙素对照品(批号: 110726-200409, 中国药品生物制品检定所), 甲醇为色谱纯, 水为重蒸馏水, 其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

2.1.1 木香的薄层色谱鉴别 取本品 10 g, 研细, 加三氯甲烷 50 mL, 加热回流 30 min, 滤过, 滤液挥干, 残渣加乙醇 2 mL 搅拌使溶解, 离心, 取上清液作为供试品溶液。取去氢木香内酯对照品, 加乙醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液, 作为供试品溶液。按处方取不含木香的其它药材, 照本品工艺及上述方法

加入适量对照品。按上述制备方法及色谱条件进样, 每次 10 μL, 测定峰面积, 计算回收率。表明加样回收结果良好。结果如表 1。

表 1 左旋紫草素加样回收率实验结果

实验号	样品中含量	加入标准品量	实测量	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	52.28	42.60	93.80	97.46		
2	51.66	42.60	95.05	101.84		
3	51.76	42.60	94.07	99.31		
4	51.10	53.25	102.99	97.45		
5	51.87	53.25	104.23	98.34	99.57	2.29
6	51.56	53.25	105.42	101.16		
7	51.51	63.90	117.92	103.93		
8	51.00	63.90	113.29	97.48		
9	51.35	63.90	114.70	99.14		

2.10 样品中左旋紫草素含量测定 按样品处理方法处理三批样品, 照上述色谱条件进行测定。

结果表明, $RSD=1.86\%$, 含量测定方法稳定可行。每克紫黄凝胶平均含左旋紫草素为 51.3 μg, 考虑生产中的损失, 暂定每克紫黄凝胶含左旋紫草素不得少于 40 μg。

3 讨论

(1) 试验曾以甲醇:水(75:25)、甲醇:0.1% 磷

酸溶液(85:15)、乙腈-水-甲酸(680:320:5)等为流动相进行试验研究。其中甲醇:水(75:25)系统, 出峰时间较晚(约 23 min), 且峰形略有拖尾, 而甲醇:0.1% 磷酸溶液(85:15)出峰时间约为 9.5 min, 且峰形对称无拖尾现象, 故最终选用甲醇:0.1% 磷酸溶液(85:15)为流动相。

(2) 本实验比较了溶剂(乙醇和甲醇)、超声时间(20、40、60 min)和提取方法(回流、超声、冷浸提取)对左旋紫草素提取效果的影响。结果甲醇的提取效率高于乙醇, 超声高于回流和冷浸, 超声 40 min 高于超声 20、60 min, 故选用甲醇超声 40 min。

参考文献

- [1] 刘梅青. 紫草的研究进展及在皮肤科的应用[J]. 山西医药杂志, 2003, 32(4): 357-358.
- [2] 赵华, 游勇基. 紫草药材化学成分的测定[J]. 海峡药学, 2007, 19(4): 35-38.
- [3] 张善玉, 朴美兰, 李梅, 等. 高效液相色谱法测定紫草涂膜剂中紫草素的含量[J]. 时珍国医国药, 2003, 14(12): 729-730.

(收稿日期: 2009-03-06 责任编辑: 曹征)