

高效液相色谱法测定复方板蓝根合剂中左旋紫草素的含量

★ 赵伟贤 (广东省江门市五邑中医院 江门 529000)

关键词:复方板蓝根合剂;左旋紫草素;HPLC;含量测定

中图分类号:R 284.1 文献标识码:A

复方板蓝根合剂是我院的自制制剂,由板蓝根、紫草、钩藤、苍术等 4 味中药组成,具有疏肝、解毒祛湿、促进表面抗原和 e 抗原转阴作用,用于治疗乙型肝炎、肝硬化及黄疸型肝炎等症。紫草为方中主药,其有效成分为紫草素^[1]。本实验采用 HPLC 法测定复方板蓝根合剂中左旋紫草素的含量,方法简便、准确、重现性好,为控制该制剂的内在质量提供了可靠的方法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 高效液相色谱仪 LC-10A SPD-10AVP 紫外检测器(日本岛津);CK chrom data acquieition system(美国 TSP)。

1.2 试剂 左旋紫草素(中国药品生物制品检定所,批号 0769-9903);复方板蓝根合剂(本院制剂室提供);超纯水;甲醇为色谱纯,其余为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 岛津 Shim-pack, VP-ODS 柱(4.6 mm×250 mm);流动相:甲醇-0.025 mol/L 磷酸(85:15);流速:1.0 mL/min;检测波长:516 nm;柱温:25℃;进样量:20 μL(定量环)。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取左旋紫草素对照品 28 mg,置 25 mL 量瓶中,加入甲醇溶解并稀释至刻度,制成每 mL 含 112 μg 的溶液,作为对照品储备液。精密吸取对照品储备液(112.0 μg/mL)0.5、1.0、2.0、2.5、3 mL,加甲醇溶液配制成浓度为 5.6、11.2、22.4、28.0、33.6 μg/mL 的对照品溶液,即得。

2.3 供试品溶液制备 精密吸取样品 5 mL,置分液漏斗中,加氯仿萃取 4 次(20、20、10、10 mL),合并氯仿液,水浴蒸干,残渣加甲醇溶解并定量转移至 10 mL 量瓶中,加甲醇溶液至刻度,用 0.45 μg 微孔滤膜滤过,即得。

2.4 线性关系考察 取“2.2”项下对照品溶液,分别以 20 μL 进样,测得峰面积,以浓度(C)对峰面积(A)积分值进行线性回归,求回归方程为 $A = 25\,467.9C - 12\,179$, $r = 0.999\,9$ 。表明左旋紫草素在 5.6~33.6 μg/mL 浓度范围内,与峰面积积分值呈良好线性关系。

2.5 精密度试验 取同一份供试品溶液,每次 20 μL,重复进样 6 次,结果平均峰面积为 486 339, $RSD = 0.56\%$ ($n = 6$)。

2.6 稳定性试验 取供试品溶液依上述色谱条件,每隔 1 小时测含量 1 次($n = 5$),第二天测定 2 次,积分值无明显变化,平均峰面积为 486 530, RSD 为 0.52% ($n = 7$)。

2.7 重复性试验 取样品(批号 040107),精密吸取 5 份,照上述色谱条件测定,结果平均含量为 39.24 μg/mL, RSD 为 0.24% ($n = 5$)。

2.8 加样回收率试验 精密吸取已知含量的供试品溶液,精密加入一定含量的左旋紫草素对照品溶液,依法提取、定容、测定,结果见表 1。

表 1 左旋紫草素加样回收率试验结果

样品含量 /μg	加入量 /μg	测得量 /μg	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
19.59	22.51	42.27	100.76		
18.43	22.51	41.04	100.44		
17.79	22.51	40.28	99.91	99.82	10.81
17.16	22.51	39.42	98.89		
19.59	11.27	30.76	99.11		

2.9 样品测定 取 4 批样品各 5 mL,依法制成供试品溶液,均以 20 μL 进样,分别测定吸收峰面积,外标法计算左旋紫草素含量,结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果($n = 2$)

批号	含量/μg·mL ⁻¹	RSD(%)
040107	39.18	0.58
040213	37.28	1.29
040310	35.58	0.62
040407	34.32	0.63

3 讨论

(1)复方板蓝根合剂方中主药紫草,其有效成分为紫草素及其衍生物,属于萘醌色素类化合物。有文献报道用紫外分光光度法及薄层扫描法测定紫草素的含量^[2],本方法采用 HPLC 测定复方板蓝根合剂中左旋紫草素的含量,简便、灵敏、准确,重复性好,可用于本品的质量控制。

(2)由本法测得各批号复方板蓝根合剂中左旋紫草素含量差异较大,通过对成品颜色的观察发现,含量高,成品的颜色较棕红,而所测含量较低的,成品的颜色较浅,这可能与紫草原药材的质量有关,故应严格控制原药材的来源与质量,并且应加强本制剂中间产品紫草素的控制。

参考文献

- [1] 苗明三,李振国. 现代实用中药质量控制技术[M]. 北京:人民卫生出版社,2000.1 015
- [2] 陈发奎. 常用中草药有效成分含量测定[M]. 北京:人民卫生出版社,1998.732

(收稿日期:2004-09-14)