

HPLC 法测定紫花地丁中秦皮乙素的含量

★ 郭晓秋 (江西中医学院附属医院药剂科 南昌 330006)

关键词:紫花地丁;秦皮乙素;高效液相色谱法

中图分类号:TQ 460.7⁺2 文献标识码:A

紫花地丁为堇菜科植物紫花地丁的干燥全草。具有清热解毒、凉血消肿的功效。本文采用高效液相色谱法对紫花地丁中的秦皮乙素含量进行测定。实验结果表明:本法灵敏度高,重现性好。

1 仪器、药品与试剂

高效液相色谱仪:Agilent 1100 四元低压梯度泵系列,DAD 二级管阵列检测器,Agilent 1100 自动进样器,Agilent 1100 化学工作站,Mettler AE163 电子天平。秦皮乙素对照品(由中国药品生物制品检定所提供,批号:741-9002);乙腈为色谱纯,磷酸为分析纯;紫花地丁由江西济生制药厂提供。

2 含量测定

2.1 色谱柱 phenomenex C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm);柱温:室温;流动相:乙腈-0.1%磷酸(8:92);流速:1.0 mL/min;检测波长:350 nm;理论板数以秦皮乙素峰计算不低于 3 000。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取秦皮乙素对照品适量,加 50%甲醇制成每 1 mL 含 0.123 6 mg 的溶液,即得。

2.3 供试品溶液的制备 取本品细粉 0.1 g,精密称足,精密加入甲醇 25 mL,称定重量,加热回流 1 小时,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失重量,滤过,精密量取续滤液 5 mL 置 10 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀,即得。

2.4 线性关系考察 精密称取秦皮乙素对照品 10.3 mg 置 50 mL 量瓶中,加 50%甲醇使溶解并按正文色谱条件分别注入液相色谱仪 20 μL,测定峰面积。以进样量(μg)为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线并进行回归分析。其回归方程为 $A = 32.441\ 16\ C - 3.309\ 56$, $r = 0.999\ 98$ 。结果表明:

秦皮乙素在 0.082 4~1.236 μg 范围内,峰面积与进样量呈良好的线性关系。

2.5 加样回收率试验 精密称取已知含量的紫花地丁细粉(6.810 mg/g),精密加入秦皮乙素对照品溶液(0.017 44 mg/mL)25 mL 照样品处理方法制备和测定,结果见表 1。

表 1 回收率试验结果

取样量/g	样品中秦皮乙素量/mg	秦皮乙素加入量/mg	秦皮乙素测得量/mg	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.047 6	0.324 2	0.436	0.758 7	99.7		
0.046 8	0.318 7	0.436	0.748 7	98.6		
0.060 7	0.413 4	0.436	0.862 1	102.9	100.4	1.6
0.060 1	0.409 3	0.436	0.849 5	101.0		
0.081 3	0.553 7	0.436	0.988 7	99.8		

2.6 精密度与稳定性试验 精密吸取对照品溶液 20 μL,进样 5 次,峰面积 RSD 为 0.07%。精密吸取供试品溶液 20 μL,每隔一段时间进样一次,24 小时内峰面积 RSD 为 0.5%。

2.7 重现性 取同一批样品,按样品处理方法平行制备 5 份,依法测定,结果证明重现性良好,秦皮乙素含量为 6.810 mg/g,RSD 为 0.7%。

2.8 样品测定 取紫花地丁药材按样品处理方法处理,按上述 HPLC 条件测定,结果见表 2。

表 2 样品测定结果(n=3)

批号	秦皮乙素含量/mg·g ⁻¹
1	6.218
2	6.935
3	6.766

3 讨论

对提取溶剂和流动相进行选择,结果表明,采用甲醇为提取溶剂,以流动相乙腈-0.1 磷酸(8:92)为最佳,峰形对称,分离度好。

(收稿日期:2005-08-30)