

反相高效液相蒸发光散射检测法测定三金软胶囊中羟基积雪草苷含量

高永艳,黎永洁

(广东省中医院,广东广州 510120)

[摘要] 目的:建立测定三金软胶囊中羟基积雪草苷含量的方法。方法:采用反相高效液相色谱法测定羟基积雪草苷含量。色谱条件为 Diamonsil C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-水(50:50),检测器为蒸发光散射检测器。结果:羟基积雪草苷在 1.006~10.064 μg 的范围内,进样量与峰面积呈良好的线性关系($r=0.999\ 2$),精密性、8 h 内稳定性、重复性均符合要求,平均回收率为 100.16%($RSD=2.28\%$)。结论:该含量测定方法灵敏、准确,重复性好,专属性强,适合羟基积雪草苷的含量测定。

[关键词] 三金软胶囊;高效液相色谱法;蒸发光散射检测器;羟基积雪草苷

[中图分类号] R927.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1673-7210(2008)10(b)-026-02

Determination of madecassoside in Sanjin Soft Capsulae by RP-HPLC-ELSD

GAO Yong-yan, Li Yong-jie

(Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510120, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the content of madecassoside in Sanjin Soft Capsulae. **Methods:** HPLC method was used to determine the content of madecassoside. The column was Diamonsil C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol-water (50:50), and the evaporative light-scattering detector (ELSD) was used as detector. **Results:** The linear range was 1.006~10.064 μg ($r=0.999\ 2$), precision, stability and reproducibility were good, the average recovery was 100.16% ($RSD=2.28\%$). **Conclusion:** The method is sensitive, accurate with good reproducibility and strong specificity, and it can be used for the determination of madecassoside.

[Key words] Sanjin Soft Capsulae; HPLC; ELSD; Madecassoside

[作者简介] 高永艳(1980-),女,药师,本科,研究方向:临床药学。

红霉素对照品,同法测定。按外标法以峰面积计算供试品中 C₄₁H₇₆N₂O₁₅ 的含量。

2.3.2 含量测定结果 按照“2.3.1”项下方法测定 3 批罗红霉素肠溶片中罗红霉素含量,结果如表 3 所示。

表 3 3 批罗红霉素肠溶片的含量

指标	第一批	第二批	第三批
含量(%)	99.5	98.9	99.8

2.4 释放度测定

按《中国药典》2005 年版二部附录 XD 第二法(方法 2)操作,采用溶出度测定法(《中国药典》2005 年版二部附录 XC 第一法)测定,以 0.1 mol/L 盐酸 1 000 ml 为溶剂,温度 37℃,

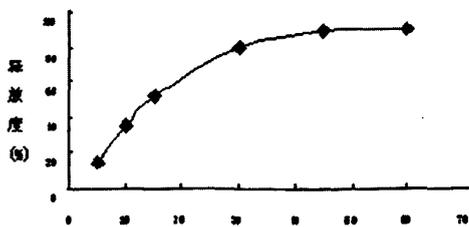


图 1 累积释放曲线

转速 100 r/min, 经 2 h 时, 立即将转篮升起液面, 检查每片肠膜均不得有裂缝或软化现象。随即转篮浸入 1 000 ml 磷酸盐缓冲液(pH6.8, 37℃)中, 转速不变, 5, 10, 15, 30, 45, 60 min 取样, 滤过, 取续滤液, 紫外分光光度法在 482 nm 的波长处分别测定吸光度, 计算释放量。其释放曲线如图 1 所示。

以上结果表明: 本品的释放度在 30 min 时就可达 80% 以上, 释放效果良好。

3 讨论

目前市场上的罗红霉素制剂都是胃溶型制剂, 罗红霉素在人工胃液中的稳定性研究数据显示其在胃液中不是特别稳定, 因此我们考虑将其制成肠溶制剂以增加稳定性, 减少对胃肠道的刺激。包肠溶衣关键要控制好包衣增重, 包衣膜太薄, 肠衣在胃液中会破裂; 膜过厚又会导致肠溶片的释放度降低, 在肠液中释放减少, 达不到释放要求, 影响药品的疗效。本品包肠衣时无需包隔离衣, 当肠衣增重 10% 时罗红霉素肠溶片完全能达到肠溶片的释放要求, 且释放度在 30 min 时就可达 80% 以上, 释放效果优于 45 min 释放 70% 以上的一般要求的肠溶片。

[参考文献]

- 王文梅. 罗红霉素的研究与生产[J]. 中国抗生素杂志, 1997, 22(2): 157-158.
- 国家药典委员会. 中国药典[S]. 二部. 北京: 化学工业出版社, 2005. 附录 75.

(收稿日期: 2008-05-28)

三金软胶囊是由金樱根、积雪草等中药组成的复方制剂,具有清热解毒、利湿通淋、益肾的功效。可治疗下焦湿热,小便短赤,淋漓涩痛,热淋,肾盂肾炎,膀胱炎,肾虚湿热下诸证者^[1,2]。临床应用广泛,具有较好的疗效。本研究参考文献^[3]使用反相高效液相色谱法,测定积雪草中羟基积雪草苷的含量。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 series 高效液相色谱仪,SEDEX 75 蒸发光散射检测器,Agilent HPLC 色谱工作站;羟基积雪草苷对照品(中国药品生物制品检定所);三金软胶囊(自制);甲醇为色谱纯;水为重蒸蒸馏水;其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Diamonsil C₁₈ 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-水(50:50);检测器为蒸发光散射检测器;漂移管温度:35℃;载气(空气)压力:3.6 bar;柱温 30℃;流速 1.0 ml/min^[2,3]。色谱图如图 1 所示。

2.2 溶液配制

2.2.1 对照品溶液的制备 取羟基积雪草苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 ml 分别含 0.2 mg、0.6 mg 的溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品 12 粒,精密称定内容物 1.0 g,精密加入甲醇 40 ml,称定重量,超声处理(功率 250 W,频率 40 kHz)30 min,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过。精密量取续滤液 25 ml,回收溶剂至干,残渣加水 20 ml 使溶解,用水饱和的正丁醇振摇提取 2 次,每次 15 ml,合并提取液,用氨试液洗涤 2 次,每次 15 ml,取正丁醇液,减压回收溶剂至干,残渣用甲醇溶解,转移至 5 ml 量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,即得。另按处方制备缺积雪草的三金软胶囊,同法制得阴性样品溶液,备用。

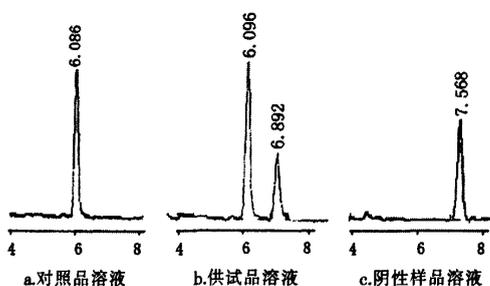


图 1 各溶液的 HPLC 图谱

2.3 标准曲线

精密吸取羟基积雪草苷(0.503 mg/ml)对照品溶液 2、4、8、12、16、20 μl 进样,测定峰面积,以峰面积对进样量分别取对数后,进行线性回归,回归方程为: $A=1.352M+15.698$ ($r=0.9992$),表明羟基积雪草苷在 1.006~10.064 μg 的范围内,进样量与峰面积的线性关系良好。

2.4 精密度试验

精密吸取羟基积雪草苷对照品溶液 10 μl,连续进样 6

次,记录峰面积, $RSD=1.56%$,表明仪器精密度良好。

2.5 稳定性试验

取供试品溶液,在 8 h 内每隔 2 h 精密吸取 10 μl,注入液相色谱仪,记录峰面积,其 $RSD=1.80%$,表明供试品溶液在 8 h 内稳定性良好。

2.6 重复性试验

取样品 5 份,每份 1.5 g,精密称定,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,测定并计算其含量, $RSD=1.90%$,表明分析方法的重复性良好。

2.7 回收率试验

精密称取已知羟基积雪草苷含量的样品 6 份,分别精密加入定量羟基积雪草苷对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,测定含量,计算回收率,结果见表 1。

表 1 回收率测定结果

序号	取样量	羟基积雪草苷含量			回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
		加入量 (mg)	原含量 (mg)	实测量 (mg)			
1	0.786 3	2.561 3	2.437 5	5.036 3	98.56		
2	0.802 1	2.561 3	2.486 5	4.989 7	102.32		
3	0.951 6	2.561 3	2.950 0	5.547 1	98.62	100.16	2.28
4	0.653 2	2.561 3	2.024 9	4.522 3	102.56		
5	0.796 3	2.561 3	2.468 5	4.988 8	101.63		
6	0.856 1	2.561 3	2.653 9	5.287 6	97.25		

2.8 样品测定

分别精密吸取上述两种浓度的对照品溶液各 10 μl,供试品溶液 10 μl。注入液相色谱仪,测定峰面积,用外标两点法对方程计算样品中羟基积雪草苷的含量,3 批样品含量分别为 1.85、1.80、1.83 mg。

3 讨论

在研究过程中,根据羟基积雪草苷易溶于水、醇等极性溶剂,不溶于氯仿等低极性溶剂的理化性质,并考虑醇提时易溶出大部分的其他成分,特别是有机酸、酚类及多糖类成分,对所测的羟基积雪草苷干扰严重的情况,实验采用甲醇溶液超声提取,回收甲醇,加水溶解,正丁醇萃取,再用氨水洗涤正丁醇,基本避免了有机酸、酚类及多糖类等成分的干扰。

使用紫外检测器的 HPLC 图谱中,羟基积雪草苷峰干扰较多,专属性不强;使用蒸发光散射器的 HPLC 图谱中,羟基积雪草苷峰干扰少,方法简便、准确、可靠,可作为质量控制方法。

[参考文献]

- 中华人民共和国国家药典委员会.《卫生部药品标准》中药成方制剂第 12 册[S].1997.11.
- 中华人民共和国国家药典委员会.中国药典[S].一部.北京:化学工业出版社,2005.326.
- 曾建国,宋云飞,侯困章,等.HPLC 法测定积雪草中三萜类化合物的含量[J].基层中药杂志,2000,14(6):7-8.

(收稿日期:2008-05-07)