

高效液相色谱法测定热淋清软胶囊中槲皮素含量

骆红梅¹, 童红², 何斌³

1. 贵阳中医学院第二附属医院药剂科, 贵州 贵阳 550001; 2. 贵州省药品检验所, 贵州 贵阳 550004;
3. 贵州得轩堂制药有限公司, 贵州 贵阳 550008)

摘要:目的 建立高效液相色谱 (HPLC) 法测定热淋清软胶囊中槲皮素的含量。方法 采用 Diamonsil C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 以甲醇-0.4% 磷酸溶液 (50:50) 为流动相, 检测波长为 360 nm。结果 热淋清软胶囊中槲皮素线性范围为 0.016 4~0.147 6 μg, $r = 0.999\ 85$, 平均回收率为 99.54%, RSD 为 0.52%。结论 HPLC 法简单, 操作方便, 重现性好, 能有效地控制药品质量。

关键词: 热淋清软胶囊 槲皮素 高效液相色谱法 含量测定

中图分类号: R284.1 R286.0

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2007)13-0025-01

热淋清软胶囊是由头花蓼 *Polygonum capitatum* Buch. Ham. ex D. Don 经提取后制成的制剂, 具有清热解毒、利尿通淋之功效。方中头花蓼的主要成分为槲皮素、没食子酸^[1-2], 笔者用高效液相色谱 (HPLC) 法测定了热淋清软胶囊中槲皮素的含量, 报道如下。

1 仪器与试剂

LC-10A 型高效液相色谱仪 (日本岛津); Libror AEL-160 型万分之一电子分析天平; FA-2004 型分析电子天平 (上海天平仪器有限公司); UV-2100 紫外-可见分光光度计。槲皮素对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号为 00081-9304) 热淋清软胶囊 (贵州光正制药有限公司) 甲醇 (色谱纯), 水为重蒸馏水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C₁₈ 柱 (50 mm × 4.6 mm, 5 μm) 流动相: 甲醇-0.4% 磷酸溶液 (50:50) 流速: 1.0 mL/min 柱温: 35℃ 检测波长: 360 nm

2.2 测定波长选择

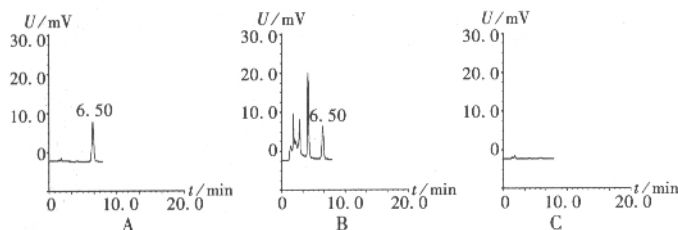
将上述对照品溶液置紫外-可见分光光度计于 200~400 nm 波长范围内扫描。结果槲皮素在 360 nm 波长处有最大吸收, 故选择 360 nm 为检测波长。

2.3 溶液制备

精密称取经五氧化二磷干燥的槲皮素对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.01 mg 的溶液, 摇匀, 即得对照品溶液。取装量差异项下的本品内容物, 混匀, 取约 0.5 g, 精密称定, 置 50 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇-25% 盐酸溶液 (4:1) 25 mL, 称定质量 (精确至 0.01 g), 置水浴中加热回流 1 h, 放冷, 称重, 用提取液补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密吸取续滤液 5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。

2.4 方法学考察

阴性干扰试验: 依法制备供试品溶液及阴性对照品溶液, 分别精密吸取对照品溶液及上述两种溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪。结果在与对照品色谱峰相应位置上无吸收峰 (见图 1), 说明辅料对测定结果无影响。



A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图 1 高效液相色谱图

线性关系考察: 精密吸取质量浓度为 8.2 μg/mL 的对照品溶

液, 分别取 2, 6, 10, 14, 18 μL 注入液相色谱仪中测定。以进样量 (μg) 为横坐标 (X)、峰面积为纵坐标 (Y) 进行线性回归, 得回归方程为 $Y = 2\ 096\ 042.7 X + 1\ 311.9$, $r = 0.999\ 85$ 。结果表明, 槲皮素进样量在 0.016 4~0.147 6 μg 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验 精密吸取对照品溶液 10 μL, 注入液相色谱仪, 连续进样 5 次, 记录色谱图及峰面积。结果的 RSD 为 1.69%, 表明仪器精密密度良好。

稳定性试验 按拟订的含量测定方法制备供试品溶液, 每隔 0, 3, 6, 9, 12 h 进样 10 μL, 记录峰面积。结果的 RSD 为 2.32% ($n = 5$), 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

重现性试验 精密称取同一批样品 5 份, 按供试品溶液制备方法操作制备待测溶液, 分别进样 10 μL, 记录峰面积, 计算含量。结果的 RSD 为 0.30%, 表明方法重现性良好。

加样回收试验 精密称取 5 份已知含量 (1.611 3 mg/g) 的同一批样品 0.25 g, 置 50 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇-25% 盐酸溶液 (4:1) 15 mL, 另取对照品溶液 (0.403 6 mg/mL) 1.0 mL, 加入锥形瓶中, 按供试品溶液制备方法操作, 分别进样 10 μL, 记录峰面积。结果见表 1。

表 1 槲皮素加样回收试验结果

取样量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
0.258 1	0.415 9	0.403 6	0.816 6	99.28		
0.253 9	0.409 1	0.403 6	0.810 6	99.48		
0.262 7	0.423 3	0.403 6	0.822 3	98.86	99.54	0.52
0.263 5	0.424 6	0.403 6	0.827 7	99.88		
0.279 1	0.449 7	0.403 6	0.854 1	100.20		

2.5 样品含量测定

精密吸取供试品溶液与对照品溶液各 10 μL 注入色谱仪中, 测定峰面积, 以外标法计算含量。结果批号为 20040301, 20040302, 20040303 的 3 批样品中槲皮素平均含量为 1.691 4, 1.681 4, 1.679 2 mg/g。

3 讨论

提取溶剂优化时会比较过甲醇-25% 盐酸溶液 (4:1)、甲醇、乙醇, 结果以甲醇-25% 盐酸溶液 (4:1) 为提取溶剂时, 槲皮素提取完全。提取方式优化时会比较过超声与回流方式, 结果后者比前者更完全。HPLC 法方法简便、灵敏、重现性好, 可用于该产品的质量

控制。

参考文献:

- [1] 盛宛云, 王永林, 胡昌奇, 等. 头花蓼黄酮类化学成分的研究[J]. 中国药学杂志, 2000, 35 (6): 300-302.
- [2] 孙长生, 梁斌, 王佳芳. 头花蓼研究进展[J]. 中药研究与信息, 2005, 7(4): 26-28.

(收稿日期 2007-01-08)