

HPLC测定脉舒胶囊中木犀草素的含量

苏金云¹, 俞虹², 吴立成² (1. 浙江省金华广福医院, 浙江 金华 321000; 2. 浙江省金华市药品检验所, 浙江 金华 321000)

摘要:目的 建立高效液相色谱法测定脉舒胶囊中木犀草素的含量。方法 用 ZORBAX SB - C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 甲醇 - 0.4% 磷酸溶液 (55:45) 为流动相, 流速 1.0 mL · min⁻¹; 检测波长: 350 nm; 柱温: 35 °C。结果 木犀草素的进样量在 0.003 864 ~ 0.023 18 μg 范围线性关系良好 (r = 0.999 9), 平均加样回收率为 98.31% (RSD = 1.15%), 符合分析要求。结论 对样品的提取条件和测定条件进行了优选, 为脉舒胶囊中木犀草素的测定提供了一种准确可靠的 HPLC 测定方法, 可更好的控制其质量。

关键词: 脉舒胶囊; 木犀草素; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.101; R931.6 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2008)03-0237-02

Quantitative Determination of Luteolin in Maishu Capsules by HPLC

SU Jin-yun¹, YU Hong², WU Li-cheng² (1. Zhejiang Jinhua Guangfu Hospital, Jinhua 321000, China; 2. Jinhua Institute for Drug Control of Zhejiang Province, Jinhua 321000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To determine the content of luteolin in maishu capsules by HPLC. **METHODS** The analysis was carried out on a Hyper ZORBAX SB - C₁₈ column (4.6 × 250 mm, 5 μm). The mobile phase was methanol - 0.4% H₃PO₄ (55:45); Flow rate was 1.0 mL · min⁻¹. Wave length was 350 nm. The temperature was at 35 °C. **RESULTS** The method was simple. The linear range of luteolin was 0.003 864 ~ 0.023 18 μg and the correlation (r) was 0.999 9. The recovery was 98.31% with RSD 1.15%.

CONCLUSION The method is easy to determine the content of maishu capsules.

KEY WORDS: maishu capsules; luteolin; HPLC

脉舒胶囊收载于国家食品药品监督管理局标准 (试行) YBZ02932003 中, 主要由花生壳加工而成, 花生壳中主含木犀草素, 为有效的降血脂药, 主要用于高血脂症。原标准中仅载了以芦丁计算的总黄酮的含量测定, 而芦丁与木犀草素的作用也有所区别, 且含芦丁的中药较多, 相对容易得到, 仅测定总黄酮的含量对脉舒胶囊的质量控制意义不大。本实验建立了脉舒胶囊的主要成分木犀草素的 HPLC 测定法, 为

更好的控制该药质量提供依据。

1 仪器与试剂

Agilent 1200 高效液相色谱仪, 岛津 UV - 2450 紫外可见分光光度计。木犀草素对照品由中国药品生物制品检定所提供, 批号为 111520 - 200201, 含量测定用; 脉舒胶囊由浙江康恩贝制药股份有限公司提供 (批号: 050702; 051101; 060601)。水为重蒸溜水, 甲醇为色谱纯 (默克公司), 其余为

作者简介: 苏金云, 女, 主管中药师 Tel: 13757985957 E-mail: sujinyun70@sina.com

分析纯。

2 色谱条件

色谱柱: Agilent Zorbax SB - C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.4% 磷酸溶液 (55: 45); 流速 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 350 nm; 柱温: 35 ℃; 外标法。理论板数按木犀草素峰计算不低于 5 000。

3 方法与结果

3.1 测定波长的选择

取对照品溶液, 置紫外分光光度计记录其紫外吸收光谱, 结果显示木犀草素在 350 nm 波长处有最大吸收, 故选择 350 nm 为测定波长。

3.2 对照品溶液

精密称取木犀草素对照品 4.83 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得对照品贮备液。再精密量取对照品贮备液 2 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 得对照品溶液 (浓度为 38.64 μg·mL⁻¹)。

3.3 供试品溶液

精密称取本品内容物约 0.5 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 2.5 mol·L⁻¹ 盐酸甲醇溶液 25 mL, 密塞, 称定重量, 置水浴中加热回流 45 min, 迅速冷却至室温, 再称定重量, 用 2.5 mol·L⁻¹ 盐酸甲醇溶液补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 2 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 作为供试品溶液。

3.4 线性关系考察

分别精密吸取对照品溶液 2, 4, 6, 8, 10, 12 μL 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 求得回归方程: $Y = 80\,819.28X - 8.9667$, $r = 0.9999$ 。实验结果表明, 木犀草素进样量在 0.003 864 ~ 0.023 18 μg 内有良好的线性关系。

3.5 稳定性试验

取同一供试品溶液分别在 0, 4, 8, 16, 24, 32 h 进样, 测定木犀草素含量 RSD 为 0.82%, 表明样品溶液在 32 h 内稳定。

3.6 精密度试验

取同一批号样品 6 份, 按“3.3”项下操作, 依上述色谱条件测定, 测得样品平均含量为 15.96 mg, RSD 为 0.97%, 表明本方法精密度较好。

3.7 回收率试验

称取样品内容物约 0.25 g, 加入适量的木犀草素对照品, 按“3.3”项下操作, 依上述色谱条件测定, 结果见表 1, 加样回收率为 98.31%, RSD = 1.15% ($n = 6$), 说明本方法准确好。

表 1 加样加收率表

Tab 1 Results of recovery test						
取样量 /g	样品中木 犀草素 的量 /mg	添加木 犀草素 的量 /mg	测得木犀 草素的量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.234 7	3.745 8	1.93	5.518 9	97.235 9		
0.235 8	3.763 4	1.93	5.562 8	97.706 8		
0.251 2	4.009 2	4.05	7.970 0	98.893 4	98.31	1.15
0.265 9	4.243 8	4.05	8.049 6	97.055 8		
0.258 2	4.120 9	6.27	10.305 7	99.180 0		
0.261 1	4.167 2	6.27	10.414 7	99.785 3		

3.8 样品测定

分别精密称取三批供试品按“3.3”项下操作, 按上述色谱条件测定, 计算样品中木犀草素的含量, 结果列于表 2。

表 2 样品测定结果 ($n = 4$)

Tab 2 Determination results of samples ($n = 4$)		
批号	木犀草素含量 /mg·g ⁻¹	RSD /%
050702	15.96	1.25
051101	16.13	0.95
060601	13.85	1.19

3 讨论

3.1 方法专属性试验, 取除花生壳外的其他辅料按标准制备方法制成阴性对照样品, 按“3.3”项下操作, 按上述色谱条件测定, 结果阴性对照样品无干扰, 见图 1, 方法专属性很好。

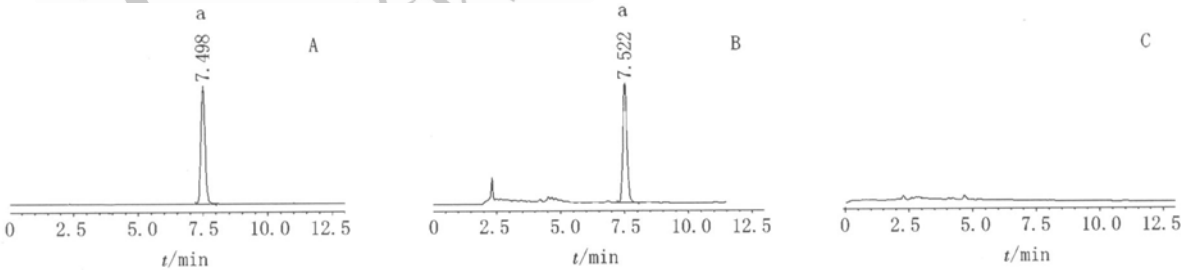


图 1 脉舒胶囊 HPLC 图谱

A - 对照色谱图; B - 样品色谱图; C - 阴性对照色谱图; a - 木犀草素

Fig 1 HPLC chromatograms of reference maishu capsules and negative sample

A - reference substance; B - sample; C - the blank reference; a - Luteolin

3.2 方法耐受性试验过程中曾进行回流提取时间、盐酸甲醇溶液浓度及用量进行优化选择, 结果以 2.5 mol·L⁻¹ 盐酸甲醇溶液 25 mL 加热回流提取 45 min 水解提取效果最好; 流动相选择参考药典方法^[1], 并对其比例进行优化, 选出文中的分离度好、柱效高、分析时间快的最佳方法。

REFERENCES

[1] Ch. P(2005) Vol I(中国药典 2005 年版. 一部) [S]. 2005: 184 - 185.

收稿日期: 2007-07-30