

HPLC 法测定郁福来胶囊中芦丁含量

林翔 刘海峰 李晖

(四川大学化工学院 四川成都 610065)

摘要 HPLC 法测定郁福来胶囊中芦丁的含量, Inertsil ODS-3 5 μm 150 \times 4.6 mm 色谱柱, SecurityGuard Guard Cartridge Kit 保护柱, 乙腈-1% 甲酸(19:81) 流动相, 检测波长 360 nm, 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$, 线性范围为 0.219 ~ 2.19 $\mu\text{g mL}^{-1}$, $r=0.998$, 平均回收率为 99.2%, RSD 为 1.52%。

关键词 HPLC 郁福来胶囊 芦丁 含量测定

前言

郁福来胶囊是由藤黄科金丝桃属植物贯叶连翘经乙醇回流提取, 减压回收乙醇至稠膏状, 再经真空干燥制得的纯中药浸膏制剂, 主治轻中度抑郁症。贯叶金丝桃中主要含有苯并二萜酮类、萘醌类(金丝桃素、伪金丝桃素等)、黄酮类(芦丁、金丝桃苷、懈皮素等)及间苯三酚类(贯叶金丝桃素、加贯叶金丝桃素等)化合物^[1]。过去大多数研究者认为金丝桃素是贯叶金丝桃抗抑郁的主要有效成分^[2,3], 但随着研究的进展, 发现贯叶金丝桃抗抑郁作用是萘醌类、黄酮类及间苯三酚类成分协同作用的结果(其中贯叶金丝桃素极不稳定, 难以定量)。本文建立贯叶金丝桃中黄酮类成分芦丁含量的高效液相色谱法测定方法, 目前尚未见相关报道^[4,5]。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

HP-1100 高效液相色谱仪, 配有紫外检测器和色谱数据处理工作站(美国惠普公司); CQ-250 型超声波清洗仪。

芦丁对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 0080-9705); 郁福来胶囊(解放军第102医院制剂中心生产); 乙醇、甲酸为分析纯; 乙腈为色谱纯。

1.2 方法与结果

1.2.1 色谱条件 色谱柱: Inertsil ODS-3 5 μm 150 \times 4.6 mm; 保护柱: Security Guard Guard Cartridge Kit; 流动相: 乙腈-1% 甲酸(19:81); 检测波长: 360 nm, 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.2.2 溶液的制备 系列对照品溶液: 取 105 $^{\circ}\text{C}$ 干燥至恒重的芦丁对照品约 10mg, 精密称定, 为 10.95mg, 置 50 mL 量瓶中, 用 75% 乙醇溶解并稀释至刻度, 得每 1mL 含芦丁 219 μg 的对照品贮备液。分别精密吸取 1.0mL、2.0mL、5.0mL、8.0 mL 于 10 mL 量瓶中, 用 75% 乙醇定容, 摇匀。

供试品溶液: 取本胶囊内容物约 0.3g, 精密称定, 置 50mL 量瓶中, 加 75% 乙醇溶液 40mL, 超声处理 30min, 冷却, 加 75% 乙醇溶液至刻度, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜过滤。

阴性对照溶液: 取当归, 按本品的制备工艺制成不含贯叶金丝桃成分的颗粒, 取该颗粒适量, 按供试品溶液制备方法进行操作, 制得阴性样品溶液。

1.2.3 系统适用性试验 分别吸取浓度为 0.1095 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液、供试品溶液及阴性对照溶液各 10 μL 注入, 按“1.2.1”色谱条件记录色谱图(见图 1-A, B, C), 按芦丁峰计算, 理论塔板数为 3000 以上。在本色谱条件下, 芦丁峰的测定无干扰, 芦丁峰的保留时间约为 10.5 min, 芦丁峰与邻近峰的分离度良好 $R > 1.5$ 。

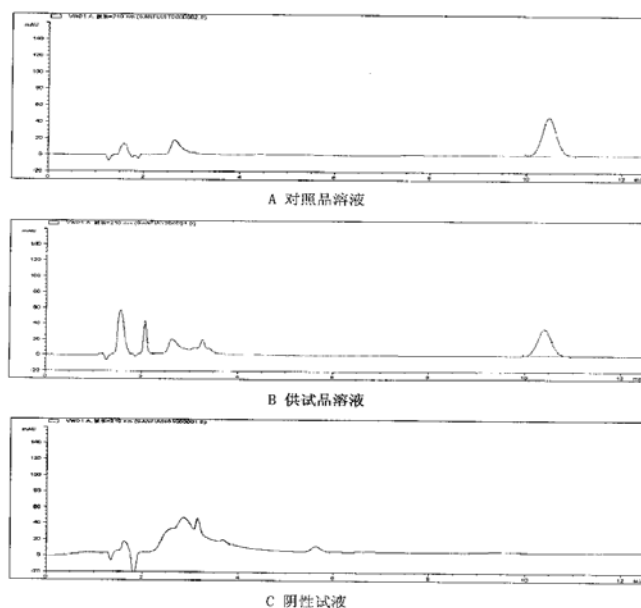


图1 对照品溶液(A)、供试品溶液(B)和阴性试液(C)的色谱图

1.2.4 标准曲线及线性范围 分别准确吸取对照品溶液各 10 μL , 进样。按“1.2.1”色谱条件测定芦丁的峰面积。以进样量(μg)为横坐标, 芦丁峰面积

为纵坐标进行线性回归,得回归方程: $Y = 1338.45X - 13.08$ ($r = 0.9998$), 在 $0.219 \sim 2.19 \mu\text{g/mL}$ 范围内, 芦丁峰面积值与进样量有良好的线性关系。

1.2.5 精密度试验 准确量取浓度为 $0.1095 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液 $10 \mu\text{L}$, 重复进样 5 次, 芦丁峰面积的 RSD 为 0.98% 。

1.2.6 稳定性试验 准确量取新制供试品溶液 $10 \mu\text{L}$, 按“1.2.1”色谱条件, 分别于 0h, 2h, 4h, 8h, 12h, 注入, 测定芦丁的峰面积, 其峰面积的 RSD = 1.0% , 结果表明样品的供试品溶液在 12 h 内稳定。

1.2.7 重复性试验 对同一批样品(批号 030401), 分别取样 6 份, 按供试品溶液的制备方法进行制样, 按“1.2.1”项下方法检测, 该批样品的芦丁含量为 $3.21 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 为 1.2% 。

1.2.8 回收率试验 准确称取已知含量的样品(批号 030401, 含量: $3.21 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) 共 9 份, 每份约 0.15 g , 分别加入 $0.95 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 对照品溶液 1.6 mL , 2 mL , 2.4 mL , 每种浓度各 3 份, 按供试品溶液的制备方法进行制样, 准确量取 $10 \mu\text{L}$ 按“1.2.1”色谱条件进样测定, 3 个浓度的均回收率分别为 98.4% , 98.1% , 98.8% ; RSD 分别为: 1.2% , 1.1% , 1.1% 。

1.2.9 样品测定 分别取不同批次郁福来胶囊各 10 粒, 称重, 取出内容物, 再称定空心胶囊, 计算平均粒重。将胶囊内容物混匀, 按“1.2.2”溶液的制备方法, 制备对照品溶液与供试品溶液。分别精密量取上述溶液各 $10 \mu\text{L}$, 注入液相色谱仪, 按“1.2.1”条件检测, 以标准曲线法计算样品中芦丁的含量。共测定 4 批样品(见表 1)。

表 1 4 批样品芦丁含量测定结果($\text{mg}/\text{粒}$)

批号	芦丁
010831	0.90
020401	1.01
020721	0.91
030401	0.98

2 讨论

2.1 供试品溶液的制备选取甲醇及 75% 乙醇 2 种溶剂进行考察; 提取方法考察超声及回流两种提取方式。结果表明, 75% 乙醇所提取的芦丁含量较甲醇更高, 故采用 75% 乙醇作为样品供试液的提取溶剂; 超声 30 min 与回流 1h 效果相当, 为实验简便, 采用超声提取。

2.2 在流动相的选择上, 分别采用甲醇-水、甲醇-磷酸、乙腈-水、乙腈-磷酸等多种条件, 结果发现, 乙腈-1% 甲酸作为流动相分离效果最理想。

2.3 本文建立用 HPLC 测定郁福来胶囊中芦丁含量的方法, 方法快速、灵敏、准确, 样品处理简便易行, 该法适用于郁福来胶囊中芦丁含量的质量分析。

参考文献

- 1 殷志琦, 叶文才, 赵守训 贯叶连翘的化学成分研究 [J], 中草药, 2001, 32(6): 487~488
- 2 Butteweck V, Wall A, Lieflander-Wulf U, et al Effects of the total extract and fractions of *Hypericum perforatum* in animal assays for antidepressant activity [J], Pharmacopsychiatry 1997, 30 (Suppl2): 117
- 3 Calapai G, Crupi A, Finzuoli F, et al Effects of *Hypericum perforatum* on levels of 5-hydroxytryptamine, noradrenaline and dopamine in the cortex, diencephalon and brainstem of the rat [J] J Pharm Pharmacol, 1999, 51(6): 723~728
- 4 张博 HPLC 法测定贯叶连翘中贯叶金丝桃素含量 [J], 中草药, 2001, 32(4): 321~322
- 5 瞿发林, 赵汉清, 刘桂永等 郁福来胶囊中金丝桃素的含量测定及稳定性试验 [J], 中国药师, 2004, 7(10): 775~777
- 6 中华人民共和国药典委员会, 中国药典 2005 版(一版), 北京: 化学工业出版社, 2005

Determination of rutin in Yufulai capsules by HPLC

Lin Xiang Liu Haifeng Li Hui

(School of Chemical Engineering and Technology of Sichuan University, Chengdu 610065, China)

Abstract HPLC was developed for determining Rutin in Yufulai capsules on Inertsil ODS-3 $5 \mu\text{m}$ $150 \times 4.6 \text{ mm}$ and Security Guard Guard Cartridge Kit column with acetonitrile-1% formic acid (19:81) mixture as mobile phase and ultraviolet detector at 360 nm. The column temperature was 30°C . The results were reported that Rutin had a good linearity in the range of $0.219 \sim 2.19 \mu\text{g/mL}$ ($r = 0.998$), The average recoveries of the method was 99.2% with the relative standard deviation of 1.52% . This method was swift, exact and accurate, can be applied in determining Rutin in Yufulai capsules.

Key words HPLC Yufulai capsules Rutin Determine content