

高效液相色谱法测定天冰调督胶囊中天麻素含量

阎向东^{1*}, 侯志飞²

(1. 河北省中医药研究院, 石家庄 050031; 2. 河北化工医药职业技术学院, 石家庄 050026)

[摘要] 目的: 建立天冰调督胶囊中有效成分天麻素的含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法, 色谱柱为 SinoChrom ODS-BP 柱(5 μm , 4.6 mm \times 150 mm), 检测波长为 220 nm, 以乙腈-0.05% 磷酸水溶液(4:96)为流动相, 流速 1.0 mL \cdot min⁻¹。结果: 天麻素在 0.05 ~ 0.5 μg 范围内线性关系良好, $r=0.9991$; 平均回收率为 98.4%, RSD = 0.88%。结论: 该方法简便、可靠、准确, 可用于该制剂的质量控制。

[关键词] 天冰调督胶囊; 天麻素; 高效液相色谱法; 含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)03-0032-02

天冰调督胶囊由天麻、当归、川芎、酸枣仁、冰片等组成, 临床上用于治疗头痛、失眠、记忆力减退、癫痫等症。天麻为方中君药, 天麻中的天麻素为本制剂的主要有效成分之一, 具有抗癫痫、镇静、镇痛的作用^[1], 为了提高制剂的质量, 取得较好的临床疗效, 我们对天麻素的含量测定方法进行了研究, 现报道如下。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(P200 高压恒流泵, UV200 紫外可变波长检测器, 大连依利特分析仪器有限公司); JD110-4 型电子天平(沈阳龙腾电子有限公司)。天麻素对照品(中国药品生物制品检定所, 批号为 110807-200205); 天冰调督胶囊(河北省中医药研究院制剂室, 批号 070102, 070512, 071011); 甲醇、乙腈(色谱纯, 天津市康科德科技有限公司); 其他试剂均为分析纯。

2 试验方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: SinoChrom ODS-BP 柱(5 μm , 4.6 mm \times 150 mm, 大连依利特分析仪器有限公司); 流动相: 乙腈-0.05% 磷酸水溶液(4:96); 流速: 1.0 mL \cdot min⁻¹; 检测波长: 220 nm; 柱温: 25 $^{\circ}\text{C}$; 进样量 20 μL 。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取干燥至恒重的天麻素对照品适量, 加乙腈-0.05% 磷酸水(4:96)配制成浓度为 50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液, 精密吸取 1 mL 于 10 mL 容量瓶中, 用乙腈-0.05% 磷酸水(4:96)定容至刻度, 摇匀, 得浓度 5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液作为天麻素对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取胶囊内容物适量, 研细, 取约 1 g, 精密称定, 置具塞三角瓶中, 精密加 70% 甲醇 50 mL, 称定重量, 超声提取 40 min, 放凉, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过。精密量取滤液 10 mL, 浓缩至近干, 残渣加乙腈-0.05% 磷酸水(4:96)混合溶液使溶解, 转移至 10 mL 量瓶中, 并用乙腈-0.05% 磷酸水(4:96)混合溶液稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 即得。

2.2.3 阴性对照液 按处方药味比例, 取除天麻外的其余药材, 按其工艺制得阴性对照, 再按供试液的制备方法制成阴性对照液。

2.3 系统适用性试验 分别吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照液各 20 μL , 注入液相色谱仪, 记录色谱图(见图 1)。可见天麻素的保留时间约为 9 min, 在此条件下天麻素峰与其他组分峰分离良好, 阴性对照液无干扰, 理论板数(n)按天麻素峰计算不低于 2 000。

2.4 线性关系 分别精密吸取浓度为 50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的天麻素对照品溶液 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 mL 于 10 mL 容量瓶中, 用乙腈-0.05% 磷酸水(4:96)定容至刻度, 摇匀。分别进样 20 μL 测定其峰面积, 以天麻素进样浓度($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)为横坐标, 以峰面积为纵

[收稿日期] 2009-07-27

[基金项目] 河北省中医药管理局计划内课题(2008029)

[通讯作者] * 阎向东, Tel: (0311) 85363971

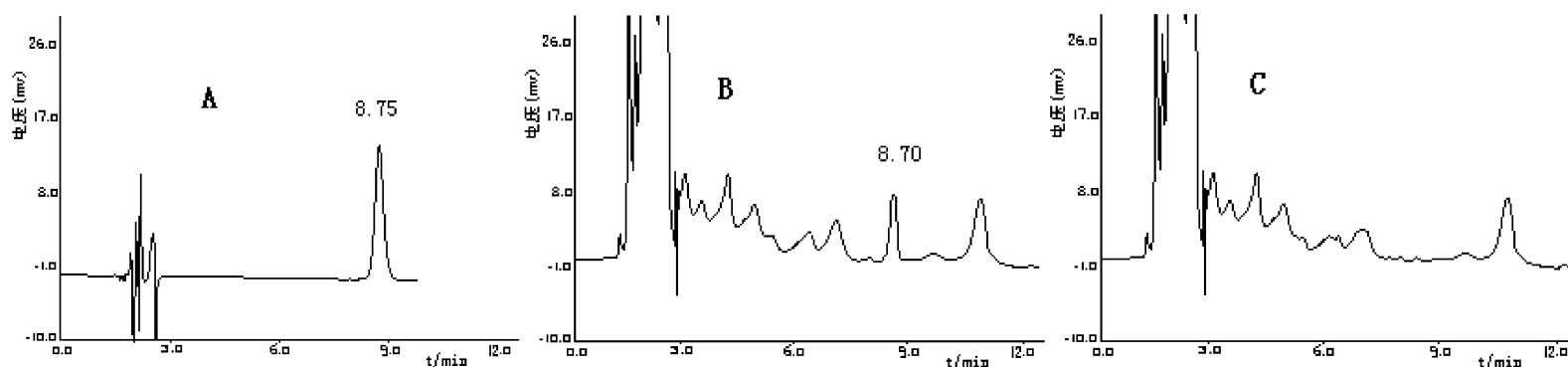


图 1 天冰调督胶囊 HPLC 图

A 对照品 B 供试品 C 阴性对照液

坐标, 进行线性回归, 得标准曲线, 测定其峰面积, 得标准曲线方程为 $Y=35.468X+54.536$, $r=0.9991$, 在 $0.05 \sim 0.5 \mu\text{g}$ 范围内线性关系良好。

2.5 精密度试验 取天麻素对照品溶液, 按“2.1”项条件测定, 连续进样 6 次, 峰面积的 RSD 为 0.50% ($n=6$), 表明精密度良好。

2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液, 分别于 0, 4, 8, 12, 16 h 进样测定, 结果峰面积的 RSD 为 0.47%, 表明供试品在所考察的 16 h 内稳定。

2.7 重复性试验 取同一批供试品 (批号 070102), 按供试品溶液的制备方法制备 6 份供试品溶液, 依法测定, 供试品中天麻素含量的 RSD 为 0.60%, 表明方法的重复性良好。

2.8 加样回收率试验 精密称取已测定含量的天冰调督胶囊 (批号 070102) 6 份, 分别加入天麻素对照品适量, 照供试品溶液制备方法制备供试液, 依法测定, 结果见表 1。天麻素的平均回收率为 98.4%, RSD 为 0.88%。

表 1 天麻素回收率试验

称样量 (g)	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 %	平均回 收率%	RSD %
0.9883	0.2262	0.20	0.4218	97.79		
0.9834	0.2251	0.20	0.4212	98.05		
0.9873	0.2260	0.20	0.4226	98.31		
0.9921	0.2271	0.20	0.4230	97.96	98.4	0.88
1.0025	0.2295	0.20	0.4297	100.12		
0.9868	0.2259	0.20	0.4219	98.02		

2.9 样品测定 按供试品溶液制备方法制备供试液, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 计算得各样品中天麻素的含量, 结果见表 2。

表 2 样品含量测定

批号	天麻素含量 (mg/粒)
070102	0.103
070512	0.111
071011	0.105

3 讨论

3.1 流动相的选择 利用 HPLC 法对药材及各种制剂中天麻素进行含量测定的报道不少^[2-3], 试验中对流动相的组成和比例进行了比较研究, 分别考察了不同比例的甲醇-水、甲醇-0.05% 磷酸水溶液、乙腈-水、乙腈-0.05% 磷酸水溶液、甲醇-乙腈-0.05% 磷酸水溶液等流动相系统, 结果以乙腈-0.05% 磷酸水溶液 (4:96) 作为流动相时天麻素的保留时间适中, 峰形较好, 且与其他组分峰分离较好。

3.2 检测波长的确定 取天麻素对照品溶液, 在 200~400 nm 范围内扫描, 在 220 nm 处有最大吸收, 与《中国药典》(2005 版)^[4] 一致, 因此检测波长定为 220 nm。

3.3 提取方法 通过对不同提取方法 (超声、加热回流)、不同提取时间 (20, 30, 40, 50, 60 min)、不同溶剂类型 (甲醇、甲醇-水)、不同溶剂体积 (30, 50, 70 mL) 的考察来选择最佳提取方法, 经比较确定 70% 甲醇超声提取 40 min 为最佳提取条件。

3.4 溶剂选择 实验中发现进行色谱分离时进样溶液中的甲醇量对天麻素峰形有影响, 改用乙腈-0.05% 磷酸水 (4:96) 做溶剂可获得满意结果, 因此供试品经提取后浓缩近干, 残渣用乙腈-0.05% 磷酸水 (4:96) 溶解。

3.5 所采用的测定方法操作简便快捷, 适合于医院制剂的质量控制。

[参考文献]

- [1] 金文山, 田德蓄. 天麻的化学和药理研究概况 [J]. 中药研究与信息, 2000, 2(6): 21.
- [2] 杨士豹, 包慧敏, 周春燕, 等. 天麻头风灵软胶囊质量标准的研究 [J]. 中成药, 2007, 29(4): 611.
- [3] 李建祥, 葛玉松. 天麻胶囊质量标准研究 [J]. 实用药物与临床, 2007, 10(5): 308.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005: 39.