

# HPLC 法测定复方唯信康胶囊中延胡索乙素的含量

刘一兵<sup>1\*</sup>, 焦怀慧<sup>1</sup>, 刘晓燕<sup>2</sup>

(1. 晋中市药品检验所, 山西 晋中 030600; 2. 晋中市卫生学校, 山西 晋中 030600)

[摘要] 目的: 采用高效液相色谱法对复方唯信康胶囊中延胡索乙素的含量进行测定, 以控制本品的质量。方法: 采用大连依利特 Kromasil ODS C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 柱, 以乙腈-0.1% 磷酸溶液(用三乙胺调节 pH 值为 5.6) (38: 62) 为流动相; 检测波长为 280 nm。结果: 延胡索乙素在进样量 0.049 44~ 0.494 4 μg 范围内有良好线性关系,  $r = 0.999 87$ , 平均回收率为 97.4%; RSD 为 1.3% ( $n = 6$ )。结论: 该法准确、稳定性好, 可作为唯信康胶囊的质量控制方法。

[关键词] 复方唯信康胶囊; 延胡索乙素; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)10-0030-02

复方唯信康胶囊是由延胡索、白芷、蟾蜍、洋金花等 24 味药组成, 具有扶正固本, 安神解毒的功效。用于治疗筋骨疼痛, 焦虑, 失眠等。延胡索作为君药, 本文采用高效液相色谱法, 测定延胡索乙素的含量。此方法专属性好、灵敏度高、方法可靠, 可用于对本品的质量控制。

## 1 仪器与试剂

岛津 SPD-10AVP 输液泵、检测器 LC-10AT VP、工作站 CLASS-VP 工作站; 色谱柱: 采用大连依利特 Kromasil ODS C<sub>18</sub> (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 乙腈为色谱纯, 水为纯化水, 其余试剂均为分析纯; 延胡索乙素(中国药品生物制品检定所 批号: 0726-200208 供含量测定用)

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 以乙腈-0.1% 磷酸溶液(用三乙胺调节 pH 值为 5.6) (38: 62) 为流动相; 流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 检测波长为 280 nm; 理论板数按延胡索乙素峰计算应不低于 3 000。

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取延胡索乙素对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.01 mg 的溶液, 即得。

**2.3 供试品溶液的制备** 取本品 30 粒, 精密称定, 取其内容物, 混匀, 取约 5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加甲醇 100 mL, 称定重量, 超声处理(功率 250 W, 频率 33 kHz) 1 h, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 滤过, 精密量取续滤液 50 mL, 置水

浴上蒸干, 残渣加水 30 mL 使溶解, 加氨水调节 pH 值为 9, 用乙醚萃取 5 次, 每次 30 mL, 合并乙醚液, 乙醚液用水洗 2 次, 每次 20 mL, 将两次的水洗液合并, 并用乙醚 20 mL 回提水洗液, 将回提乙醚液与上述乙醚液合并, 置水浴蒸干, 残渣加甲醇溶解并转移至 10 mL 瓶中, 用甲醇稀释刻度, 摇匀, 滤过, 即得。

**2.4 阴性对照干扰试验** 按处方比例取(除延胡索外)全部药味, 按本品工艺及供试品溶液的制备方法制备空白对照溶液, 按 2.3 项下制备依法进行测定, 结果表明: 在延胡索乙素对照品的保留时间处, 无其他成份干扰, 见图 1~ 3。

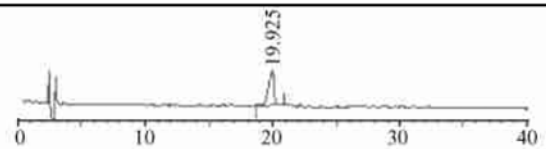


图 1 延胡索对照品溶液 HPLC 图

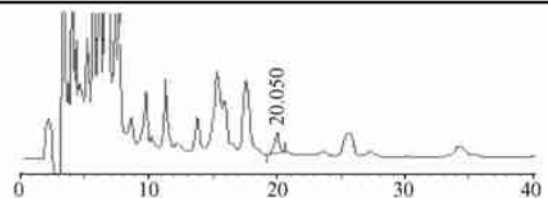


图 2 供试品溶液 HPLC 图

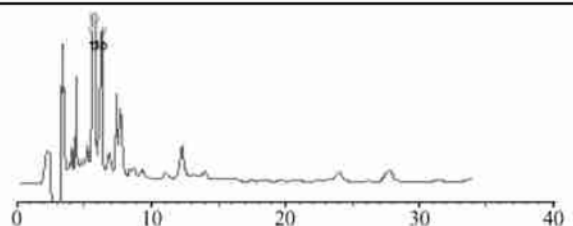


图 3 延胡索阴性对照 HPLC 图

[收稿日期] 2009-02-25

[通讯作者] \* 刘一兵, Tel: (0354) 3035576

**2.5 精密度试验** 精密吸取同一份供试品溶液, 重复进样 6 次, RSD 为 1.4%, 仪器精密度良好。

**2.6 线性关系的考察** 精密称取延胡索乙素对照品适量, 加甲醇制成  $0.02472 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的对照品溶液, 分别精密进样 2.0, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0  $\mu\text{L}$ , 依法测定, 以延胡索乙素样量 ( $\mu\text{g}$ ) 与峰面积作图, 得一直线, 其回归方程为  $Y = 9.56 \times 10^5 + 8.72 \times 10^2 X$ ,  $r = 0.99987$ 。结果表明, 延胡索乙素在  $0.04944 \sim 0.4944 \mu\text{g}$  范围内进样量的对数与峰面积之间呈良好线性关系。

**2.7 稳定性试验** 取同一份供试品溶液, 分别在制备后 0, 2, 6, 12, 24 h 后依法测定延胡索乙素的峰面积, 结果表明供试品溶液的峰面积在 24 h 内基本不变, RSD 为 0.74%。

**2.8 重复性试验** 取同批样品, 按“2.3”项下方法测试, 平行测定 6 份, 分别计算延胡索乙素的含量, 测得延胡索乙素的含量平均值为  $0.0436 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , RSD 为 1.0% ( $n = 6$ )。

**2.9 回收率试验** 采用加样回收方法, 精密称取已知含量的样品 6 份各 2.5 g, 分别精密加入延胡索乙素对照品溶液 ( $0.02472 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 5 mL, 挥干溶剂后, 按“2.3”项下方法测试, 平均回收率为 97.4%, RSD 为 1.3% ( $n = 6$ ), 见表 1。

表 1 延胡索乙素回收率试验结果

测定次数	取样量 (g)	测得量 (mg)	样品含量 (mg)	对照品加入量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	2.5001	0.2305	0.1090	0.1236	98.30		
2	2.5007	0.2283	0.1090	0.1236	96.52		
3	2.5013	0.2270	0.1091	0.1236	95.39		
4	2.4997	0.2312	0.1090	0.1236	98.87	97.4	1.3
5	2.5035	0.2291	0.1092	0.1236	97.01		
6	2.5031	0.2304	0.1091	0.1236	98.13		

**2.10 样品的含量测定** 取样品 3 批, 分别按本文色谱条件, 精密量取供试品溶液和对照品溶液各 20  $\mu\text{L}$ , 注入液相色谱仪, 依法测定每批的含量, 测得每粒含延胡索乙素的平均含量分别为 12.03, 13.45, 12.37  $\mu\text{g}$ 。

### 3 讨论

考察了甲醇-0.1% 磷酸溶液(用三乙胺调节 pH 值为 6.0)、乙腈-0.1% 磷酸溶液(用三乙胺调节 pH 值为 5.6)为流动相, 结果表明前者的分离效果不好, 而后者的分离佳, 并考察了几种流动相的比例, 结果表明以乙腈-0.1% 磷酸溶液(用三乙胺调节 pH 值为 5.6)(38:62)最为理想; 由于本品处方大, 且延胡索的处方量也不大, 在研究本方法时供试品的取样量多才能达到方法学研究的要求, 这样也带来干扰成份的增加, 通过实验表明给色谱的分离造成很大的影响, 故又增加了用水洗涤乙醚液的步骤, 以除去一定量的干扰成分, 同时对水洗涤液也用乙醚进行了回提以防延胡索乙素丢失, 实验结果表明色谱分离度及含量结果均满意; 在研究本方法时也进行了回流和超声方法的比较, 但回流提取分离效果更差, 最终仅本实验的提取方法对本品能较好的将延胡索乙素提取完全。

本文参考有关文献, 延胡索乙素的色谱峰在 280 nm 处有最大吸收, 故选择 280 nm 作为检测波长, 以提高检测的灵敏度和可靠性。

### [参考文献]

- [1] 郭汉文, 王怡君, 孙黎冰, 等. HPLC 法测定骨友灵贴膏中延胡索乙素的含量[J]. 中国药品标准, 2007, 28(4): 272.
- [2] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005: 94.