

高效液相色谱法测定怡神胶囊中五味子乙素的含量

张立升^{1*}, 富玉海², 李 斌²

(1. 黑龙江省黑河市第一人民医院, 黑龙江 黑河 164300;

2. 黑龙江省黑河市药品检验所, 黑龙江 黑河 164300)

[摘要] 目的: 用高效液相色谱法测定怡神胶囊中五味子乙素的含量。方法: 色谱柱为 Kromasil C₁₈ 柱; 流动相: 甲醇-水(75:25); 检测波长: 224 nm; 流速: 1.0 mL·min⁻¹。结果: 线性范围为 0.168~0.84 μg, $r=0.9996$; 平均回收率为 99.19%, RSD 为 0.65%。结论: 该法简便、灵敏、准确。

[关键词] 高效液相色谱法; 怡神胶囊; 五味子乙素; 含量测定

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)09-0012-02

怡神胶囊由五味子、刺五加、石菖蒲、维生素 E 四种药物组成, 功效健脾、补肾、养心安神, 用于治疗神经衰弱、失眠、多梦、健忘、心神不宁、倦怠乏力、食欲不振, 疗效较好, 是黑河市第一人民医院应用多年的常用医院制剂(批准文号: 黑市卫药制字[1997021]号)。方中五味子收敛固涩, 益气生津, 补肾宁心, 主要成分为多种木脂素, 生理活性显著。原标准无定量检测指标, 为提高制剂质量, 选择其中含量较高的五味子乙素作为质量控制的定量指标, 用高效液相色谱法测其含量, 方法简便、准确、重复性好。

1 仪器与试剂

LC-10Avp 型高效液相色谱仪(日本岛津), SPD-10Avp 紫外检测器(岛津), N3000 色谱工作站(浙江大学智能信息研究所), UV-2100 型分光光度计(岛津)。五味子乙素(中国药品生物制品检定所, 110765-200407); 怡神胶囊(黑龙江省黑河市第一人民医院制剂室, 批号: 050312, 050524, 051107, 060410); 自制超纯水; 甲醇为色谱纯。

2 色谱条件

流动相: 甲醇-水(75:25)^[1]; 色谱柱: 十八烷基硅烷键合硅胶填充柱; 波长: 224 nm; 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 进样量: 20 μL; 柱温: 27℃。理论板数按五味子乙素计应不低于 3 000。

3 方法与结果

3.1 供试品溶液制备 取怡神胶囊内容物 1.4 g, 精密称定, 置具塞三角瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 称重, 超声处理 2 次, 每次 20 min, 放冷后称重, 甲醇补足重量, 摇匀, 离心(10 min, 转速 2 500 r·min⁻¹); 取上清液用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 备用。

3.2 检测波长的确定 取用甲醇配制的五味子乙素对照品溶液 21 μg·mL⁻¹, 在分光光度计上 200~400 nm 范围扫描, 在 224 nm 波长处吸收较大, 故选之为检测波长。

3.3 对照品溶液制备及线性关系考察 精密称取五味子乙素对照品 8.4 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为贮备液。精密量取 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇配制成浓度为 8.4, 16.8, 25.2, 33.6, 42.0 μg·mL⁻¹ 的对照品溶液, 分别以 20 μL 进样, 测得峰面积, 求回归方程为 $A = 80\,773C - 5\,661$, $r = 0.9996$ 。表明五味子乙素在(0.168~0.84) μg 范围内线性良好。

3.4 空白试验 按处方配比与制法, 制成不含五味子的样品, 并按供试品溶液的制法制成空白对照溶液。依法进样测定, 结果在五味子乙素出峰位置未见其它色谱峰, 表明在实验条件下, 其它药材成分对测定无干扰。见图 1。

3.5 稳定性考察 取“3.1”配好的供试品溶液依上述色谱条件, 按 0, 1, 2, 3, 4, 5, 24 h 测定峰面积, 测得五味子乙素峰面积平均值为 235 8375, RSD 为 0.72%, 五味子乙素在甲醇中 24 h 内稳定。

3.6 精密度试验 取“3.2”配好的对照品溶液, 每次 20 μL, 重复进样 6 次, 测得峰面积平均值为

[收稿日期] 2006-12-02

[通讯作者] * 张立升, Tel: (0456) 8661828; E-mail: zjs8256460@163.com

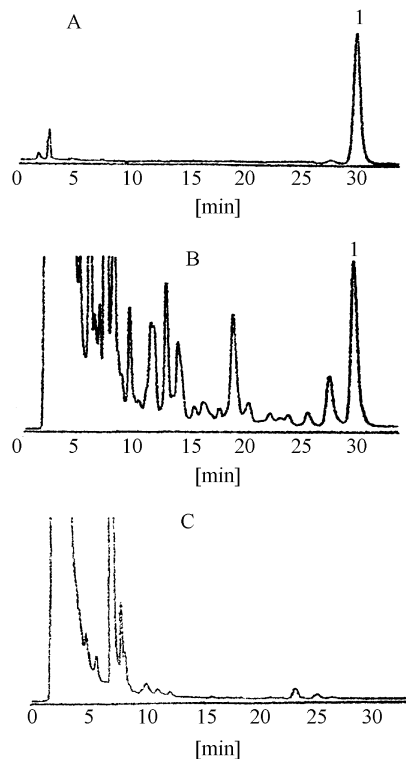


图 1 怡神胶囊高效液相色谱图

A. 五味子乙素对照品 B. 供试品 C. 阴性对照

1 690 292, RSD 为 0.54%。

3.7 重复性试验 取供试品(批号: 060410)内容物 6 份, 每份 1.0 g, 精密称定, 按“样品测定”项下操作, 测得峰面积, 本品装量为 0.35 g, 计算平均含量为 180.9 $\mu\text{g}/\text{粒}$, RSD 为 0.81%, 该方法符合要求。

3.8 回收率试验 精密称取已测知含量的供试品 6 份(批号: 060410), 每份 0.5 g, 分别为 0.536 2, 0.531 3, 0.526 0, 0.528 4, 0.523 6, 0.531 0 g 置具塞锥形瓶中, 精密加入浓度为 84 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的五味子乙素对照品贮备液 3 mL, 挥干溶剂, 按“3.1”项下操作,

按外标法计算, 结果见表 1, 平均回收率为 99.19%, RSD 为 0.65%。

表 1 五味子乙素加样回收率试验结果($n=6$)

供试品含量 (μg)	加入量 (μg)	测得量 (μg)	回收率 (%)
277.91	252	530.26	100.14
275.38	252	526.15	99.51
272.62	252	525.36	99.09
273.87	252	524.31	99.38
271.36	252	525.03	98.76
275.23	252	527.94	98.28

3.9 样品测定 取 4 批样品各 1.4 g, 依法制成供试品溶液, 另取五味子乙素对照品, 加甲醇制成 20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的溶液, 分别吸取供试品溶液和对照品溶液 20 μL 注入色谱柱, 测定峰面积, 按外标法计算五味子乙素含量, 结果分别为 197.3, 184.6, 174.1, 181.4 $\mu\text{g}/\text{粒}$ 。

4 讨论

确定检测波长时, 测定五味子乙素的 最大吸收波长 是 218 nm, 但基线不稳, 我们比较了检测效果后选择了本实验波长。

五味子是怡神胶囊的主药, 五味子乙素是五味子的主要成分, 含量较高, 用高效液相色谱法测定怡神胶囊中五味子乙素的含量, 方法简便、准确、重复性好, 为怡神胶囊的质量控制提供了分析方法。

[参考文献]

- [1] 易延遂, 杨永华. 五味子主要成分在寿延口服液中的转移率研究[J]. 中成药, 2004, 26(11): 949-951.