

HPLC 法测定强力天麻杜仲胶囊中天麻素的含量

唐宇伟¹, 王冰¹, 徐度¹, 杨伟鹏^{2*}

(1. 上海市中药研究所, 上海 201203; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 建立测定强力天麻杜仲胶囊中天麻素含量的高效液相色谱方法。方法: 采用 Agilent Extend C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 柱, 以甲醇-0.1% 乙酸溶液(2:98)为流动相, 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 在 220 nm 波长处检测。结果: 天麻素在(0.10~1.20) μg 范围内呈线性关系, $r = 0.9999$; 平均加样回收率为 97.26%, RSD 为 2.10% ($n = 5$)。结论: 该方法简便快速, 准确性和重复性好, 可用于强力天麻杜仲胶囊中的天麻素的含量测定。

[关键词] 强力天麻杜仲胶囊; 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(2007)12-0011-03

HPLC Determination of Gastrodin in Qianglitanmaduzhong Capsules

TANG Yu-wei¹, WANG Bing¹, XU Du¹, YANG Wei-peng^{2*}

(1. Shanghai Institute of Chinese Materia Medica, Shanghai 201203, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To develop an HPLC method for determination of gastrodin in Qianglitanmaduzhong capsules. **Methods:** Analytical column was Agilent Extend C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase consisted of methanol-0.1% acetic acid solution (2:98). The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. The detector wavelength was set at 220 nm. **Result:** The calibration curve was linear over the range of (0.10~1.20) μg for gastrodin ($r = 0.9999$). The average recovery ($n = 5$) was 97.26%, RSD was 2.10%. **Conclusion:** The developed method is convenient rapid and accurate with good reproducibility. It is suitable for the analysis of gastrodin in Qianglitanmaduzhong capsules.

[Key words] Qianglitanmaduzhong capsules; gastrodin; HPLC; determination

强力天麻杜仲胶囊是由天麻、杜仲(盐制)、草乌(制)、附子(制)等12味中药经提取加工制成的纯中药复方制剂, 具有散风活血、舒筋止痛的功效, 临床主要用于中风引起的筋脉掣痛、肢体麻木、行走不便、腰腿酸痛、头痛头昏, 疗效显著。天麻为方中君药, 有平肝息风止痉之功效, 用于头痛眩晕、肢体麻木、小儿惊风、癫痫抽搐、破伤风等病症。部颁标准中强力天麻杜仲胶囊含量测定采用薄层扫描法, 此法操作费时, 样品前处理方法复杂而且重现性、精密度较差。采用HPLC法测定强力天麻杜仲胶囊中天

麻素含量的方法至今未见报道, 因此本文以天麻中主要有效成分天麻素为指标对产品进行质量控制, 参考有关文献[1, 2], 研究并建立了测定强力天麻杜仲胶囊中天麻素含量的高效液相色谱法。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪 (Agilent-DAD-G1315A 紫外检测器); UV-2401PC 型紫外分光光度计; CQ-6 超声波清洗器 (上海沪超超声波仪器有限公司)。天麻素对照品 (批号: 111807-200205, 中国药品生物制品检定所); 强力天麻杜仲胶囊 (批号: 20040406、20030704、20040409、20040501、20040408、20040108、20030705, 由上海雷允上药业有限公司生产); 甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯, 水为超纯水。

[收稿日期] 2007-07-30

[通讯作者] * 杨伟鹏, Tel: 0086(10)-64046469; E-mail: hrbywp@sina.com

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性 色谱柱: Agilent Extend C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-0.1% 乙酸溶液(2:98), 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 柱温: 30 °C; 检测波长 220 nm; 进样量 5 μL。以外标法计算含量, 理论塔板数按天麻素计算应不低于 3 000, 该色谱峰与相邻色谱峰分离度好。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 称取天麻素对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.10 mg 的对照品溶液, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取强力天麻杜仲胶囊 10 粒, 取出内容物, 混匀, 精密称取本品粉末 0.80 g, 置 25 mL 具塞三角烧瓶内, 加入甲醇 10 mL, 称定重量, 超声提取 30 min, 放冷, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过。量取续滤液, 以 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。

2.2.3 阴性样品溶液的制备 原方去天麻, 按制备工艺, 得阴性制剂。将阴性制剂研碎, 取粉末 1.00 g, 按供试品溶液的制备项下方法处理, 即得。

2.3 专属性试验 精密吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性样品溶液各 5 μL, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 图可见其他药味对天麻素测定无干扰。

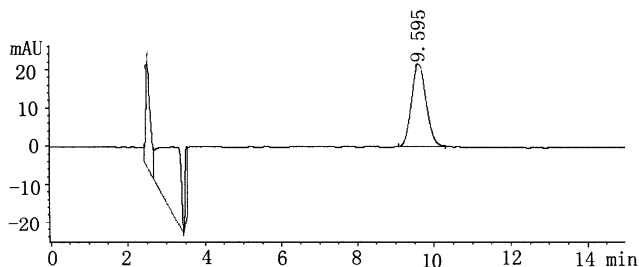


图 1 天麻素对照品 HPLC 图

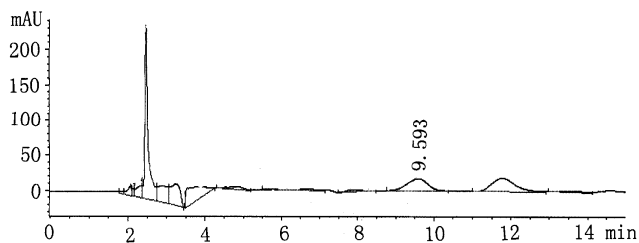


图 2 样品强力天麻杜仲胶囊 HPLC 图

2.4 线性关系考察 精密吸取对照品溶液 2, 4, 8, 10, 12 μL 进样, 按上述色谱条件测定, 以对照品的峰面积积分值 Y 为纵坐标, 进样量 X (μg) 为横坐标进行线性回归, 得天麻素线性方程为 $Y = 3.83 \times 10^{-1} + 1.45 \times 10^3 X$, $r = 0.9999$ 。结果表明天麻素在

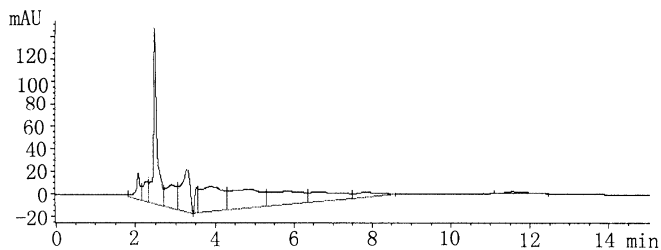


图 3 阴性样品 HPLC 图

(0.10~1.20) μg 范围内呈良好线性关系。

2.5 精密度试验 精密吸取天麻素对照品溶液 5 μL, 按上述色谱条件, 重复进样 5 次, 测定峰面积, 计算得到天麻素峰面积积分值 RSD 为 0.65% ($n = 5$)。结果表明本法精密度良好。

2.6 重复性试验 精密称取同一供试品 5 份, 分别按供试品溶液制备项下方法处理, 按上述色谱条件进样 5 μL, 记录天麻素的色谱峰面积, 测得其平均含量为 1.549 mg·g⁻¹, RSD 为 1.65%。表明本法重复性好。

2.7 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 时进样, 结果表明, 样品稳定性好, RSD 为 1.91%。表明天麻素供试品溶液在 10 h 内所测的峰无变化。

2.8 加样回收率试验 精密称取已知含量的同一批供试品 5 份, 每份约 0.40 g, 分别加入精密称定的天麻素对照品, 按供试品溶液制备项下方法处理, 依法测定, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果(mg, $n = 5$)

样品中天麻素量	加入对照品量	实测天麻素量	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.619	0.201	0.811	95.52		
0.621	0.204	0.818	96.57		
0.622	0.301	0.925	100.66	97.26	2.10
0.615	0.401	1.006	97.51		
0.617	0.404	1.005	96.03		

2.9 样品测定 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 5 μL 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 以外标法计算样品中天麻素的含量, 测定 7 批样品的含量。结果分别为 1.555, 1.550, 1.531, 1.545, 1.539, 1.499, 1.456 mg·g⁻¹ ($n = 3$)。

3 讨论

将天麻素对照品溶液于 190~400 nm 进行紫外扫描, 结果在 220 nm 处有最大吸收, 故确定 220 nm 为检测波长。与药典中天麻含量测定项下一致^[3]。

本文考察了不同提取溶剂(甲醇, 乙醇, 50% 甲醇, 50% 乙醇) 分别超声提取 30 min, 结果显示甲醇

为最佳提取溶剂。还考察了不同提取方法(甲醇索氏提取、热回流、超声提取),结果表明超声提取效果最佳。本文还对超声提取时间进行了优选,将同一样品约 0.4 g,超声提取 10, 20, 30, 40, 50 min,发现超声提取 30, 40, 50 min 含量并无明显差异,最终选定以甲醇超声 30 min 为最佳提取条件。

由于强力天麻杜仲胶囊为复方,成分相对复杂,按文献报道方法进行试验,结果天麻素峰形较差,样品中各峰无法达到基线分离。采用本文方法进行测定,则峰形及分离度均较好,保留时间适当。

[参考文献]

- [1] 丁海云,吴锡强,宋俊梅,等. HPLC 法测定天麻素注射液的有关物质[J]. 齐鲁药事, 2006, 25(5): 278-279.
- [2] 潘震宁,梁建国,廖彬. 高效液相色谱法测定天麻头风衣片中天麻素的含量研究[J]. 中医药导报, 2005, 11(5): 61-63.
- [3] 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. 39-40.