

高效液相色谱法测定乳安胶囊中淫羊藿苷的含量

牛德斌^{1*}, 张 村²

(1. 河南省息县第二人民医院, 河南 息县 464300; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 建立乳安胶囊的含量测定方法。方法: 高效液相色谱(HPLC)法, 色谱柱: Kromasil C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水(25: 75); 检测波长: 270 nm; 柱温: 30 °C; 流速: 1.0 mL·min⁻¹。对乳安胶囊中的淫羊藿苷进行含量测定。结果: 淫羊藿苷在(0.256~ 4.096) μg 范围内线性关系良好, 平均回收率为 99.99%, RSD= 0.74%。结论: 该法简便、快速、准确, 可作为乳安胶囊的质量控制方法。

[关键词] 乳安胶囊; 淫羊藿苷; 高效液相色谱;

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2007)05-0013-02

乳安胶囊为收载于部颁标准的乳安片^[1]剂改而来, 由牡蛎、淫羊藿、天冬等十几味中药组成, 具有理气化痰, 软坚散结的作用, 临床上用于气滞血瘀证之乳癖患者。淫羊藿为方中主要药物之一, 其主要成分淫羊藿苷有增加心脑血管流量, 促进免疫功能以及抗衰老、抗肿瘤等作用^[2]。因此控制淫羊藿苷的含量对确保该制剂疗效有重要意义。我们以淫羊藿苷为指标, 采用高效液相色谱法^[3]对该方的含量进行了测定, 以达到控制本品质量的目的。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪: Agilent 1100 series, 包括四元泵(QuataPump), 自动进样器(ALS), DAD 检测器, 在线脱气机(Degasser)和柱温箱。水为重蒸馏水, 甲醇为色谱纯, 其它试剂均为分析纯。

对照品淫羊藿苷(供含量测定用, 批号 110737-200312)和丹参酮 II A(供含量测定用, 批号 0766-20009), 由中国生物制品检定所提供。乳安胶囊(批号 050416, 050417, 050418)由鹤壁市中药有限公司提供。

2 实验方法与结果

2.1 对照品溶液的制备 精密称取干燥至恒重的淫羊藿苷对照品适量, 加甲醇制成 0.080 mg·mL⁻¹的溶液; 过微孔滤膜(0.45 μm), 备用。

2.2 供试品溶液的制备 取本品 40 粒, 倾出内容物, 研细, 取 5 g, 精密称定, 精密加入乙醇 50 mL, 密

塞, 称定重量, 超声提取 30 min, 放冷, 再称定重量, 用乙醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 20 mL, 蒸干, 残渣加水 10 mL 使溶解, 用乙酸乙酯振摇提取 3 次, 每次 10 mL, 合并乙酸乙酯液, 蒸干, 残渣加甲醇使溶解, 并转移至 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45 μm)滤过, 取续滤液, 即得。

2.3 阴性对照溶液的制备 按处方比例去掉淫羊藿, 制备成缺淫羊藿的阴性对照样品, 按供试品溶液的制备方法制备成阴性对照溶液。

2.4 色谱条件 色谱柱: Kromasil C₁₈柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水(25: 75); 检测波长: 270 nm; 柱温: 30 °C; 流速: 1.0 mL·min⁻¹。在此条件下乳安胶囊中淫羊藿苷与其他组分均能达到基线分离(见图 1), 阴性样品在淫羊藿苷位置无吸收峰, 理论板数按淫羊藿苷峰计算不低于 3 000, 峰与其它组分的峰的分离度大于 1.5。

2.5 线性关系考察 精密称取淫羊藿苷对照品, 分别制成 25.6 μg·mL⁻¹、51.2 μg·mL⁻¹、102.4 μg·mL⁻¹、204.8 μg·mL⁻¹、409.6 μg/mL 的溶液, 精密吸取各对照品溶液 10 μL, 依次注入高效液相色谱仪, 按上述色谱条件测定峰面积, 以对照品溶液的浓度为横坐标, 以淫羊藿苷色谱峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。回归方程为: $Y = 10.85X + 9.20$, 相关系数 $r = 0.999\ 98$ 。表明淫羊藿苷在(0.256~ 4.096) μg 内线性关系良好。

2.6 精密度试验 取同一样品供试品试液, 重复进样 5 次, 结果淫羊藿苷峰面积积分值的 RSD 为

[收稿日期] 2006-12-06

[通讯作者] * 牛德斌, Tel: (0376) 6130069

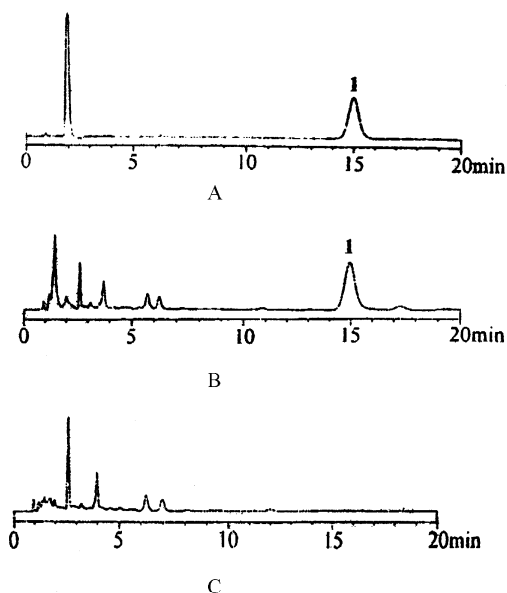


图 1 乳安胶囊的 HPLC 色谱图

A. 对照品色谱图 B. 样品色谱图 C. 阴性样品色谱图
1. 淫羊藿苷

0.69%。

2.7 稳定性试验 精密吸取供试品溶液 10 mL, 分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进样, 依法测定, 由峰面积积分值统计结果可见供试品溶液在 24 h 内保持稳定, RSD= 1.40%。

2.8 重复性试验 取同一批号供试品(批号 050416)适量, 研细, 取 5 g, 5 份, 精密称定, 制备成供试品溶液, 依法测定, 结果淫羊藿苷 5 次测定值的相对标准偏差为 1.53%。

2.9 加样回收试验 精密称取已知含量同一批号供试品(批号 050416)适量, 研细, 取 2.5 g, 精密称定, 共取 6 份, 分别精密加入淫羊藿苷对照品适量, 按供试品溶液制备方法制备样品, 进样量 10 mL, 依法测定淫羊藿苷峰面积, 计算回收率, 结果见表 1。

2.10 样品测定 按照供试品溶液制备方法, 并对 10 批中试产品进行含量测定, 精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 mL, 注入液相色谱仪, 依法测定, 结果见表 2。

表 1 加样回收试验结果

样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
2.319 8	1.154 7	3.467 4	99.39	99.99	0.74
2.347 8	1.154 7	3.518 2	101.36		
2.321 8	2.392 3	4.722 2	100.34		
2.325 6	2.392 3	4.708 2	99.59		
2.297 4	3.604 9	5.888 8	99.63		
2.289 2	3.604 9	5.880 2	99.61		

表 2 样品含量测定结果(n=2)

批号	淫羊藿苷(mg/粒)
050416	0.283 7
050417	0.274 3
050418	0.276 1
050510	0.269 2
050511	0.275 4
050512	0.267 5
050513	0.283 0
050514	0.284 4
050515	0.284 3
050516	0.290 0

3 讨论

乳安胶囊药味多, 成分复杂, 且极性相近的成分对欲测定成分干扰大。采用所建立的样品制备方法, 可使淫羊藿苷色谱峰分离较好, 且阴性样品无干扰。

本实验测定方法经各项试验考察, 结果表明该方法灵敏可靠、重现性好, 可用于控制乳安胶囊中淫羊藿苷的含量。

[参考文献]

- [1] 国家药品监督管理局. 国家中成药标准汇编[S]. 外科、妇科分册, 北京: 2002. 159.
- [2] 郑虎占, 董泽宏, 余靖. 中药现代研究与应用[M]. (5), 北京: 学苑出版社, 1998. 4225.
- [3] 杨艳平, 张敏, 胡子帆, 等. RP-HPLC 法测定杞蓉片中淫羊藿苷的含量[J]. 中药新药与临床药理, 2006(2): 43-45.