

HPLC 法测定天麻促智胶囊中天麻素含量

吴玉玲¹, 吴玉贤²

(1 河南省西峡县中医院, 西峡 474550; 2 河南省宛西制药股份有限公司, 西峡 474550)

关键词: 天麻促智胶囊; 天麻素; HPLC 法

中图分类号: R284.1 文献标识码: D 文章编号: 1005-9903(2001)06-0008-02

天麻促智胶囊由天麻、杜仲、钩藤等中药组成, 具有平肝息风, 清热活血, 补益肝肾, 益智安神之功, 用于老年痴呆属肝阳上亢所表现的头痛头晕、失眠健忘、肢体麻木, 反应迟钝等症。天麻素为该方君药天麻的主要成分, 其含量测定已报道的有分光光度

法^[1]、薄层扫描法^[2]及 HPLC 法^[3]。2000 年版中国药典一部天麻项下也有 HPLC 法测定天麻素含量的规定, 但经研究均不适用本品。我们经过研究建立了高效液相法测定天麻促智胶囊中天麻素含量, 分离效果好, 简单、快速、准确, 为控制天麻促智胶囊的内在质量提供了实验数据。

1 仪器与药品

收稿日期: 2001-02-06

美国惠普 HP110 型高效液相色谱仪, HP1100 系列单元泵, VWP 紫外检测器, HP3395 数据处理机, 10 μ l 定量进样管, FA1104 型电子天平。

天麻促智胶囊(河南省宛西制药股份有限公司生产), 天麻素对照品(中国药品生物制品检定所), 乙腈为色谱纯, 水为去离子水, 使用前超声处理, 其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 HYPERSIL ODS 柱(4mm \times 250mm, 10 μ m); 流动相: 乙腈-水-磷酸(3: 97: 0.2); 检测波长 221nm; 柱温 40 $^{\circ}$ C, 流速 1.0ml/min。在此条件下, 样品中天麻素与相关峰均能达到基线分离, 保留时间约为 8.9min。

2.2 标准曲线绘制 精密称取 80 $^{\circ}$ C 干燥至恒重的天麻素 5mg, 置 25ml 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀。从中吸取 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5ml 分别稀释至 10ml。吸取上述溶液, 分别进样 10 μ l, 采取外标法定量, 以进样量 x (μ g) 为横坐标, 峰面积 Y 为纵坐标作图, 得回归方程为 $Y = 2393.17x - 570.8$, $r = 0.9997$ 。进样量在 0.1~ 0.5 μ g 范围内线性关系良好。

2.3 样品测定 取本品内容物 0.5g, 精密称定, 置具塞三角瓶中, 精密加甲醇 20ml, 称重, 超声处理 30min(提取功率大于 250W, 频率大于 40KHz), 放冷, 用甲醇补足重量, 滤过, 弃去初滤液 5ml, 精密量取续滤液 1ml 置水浴上蒸干, 残渣用少量水溶解, 加在中性氧化铝柱(100~ 200 目, 5g, 内径 1.2cm, 干法装柱)上, 用 70% 甲醇 30ml 洗脱。收集洗脱液, 置水浴上蒸干, 残渣加甲醇溶解并定容于 10ml 量瓶中, 摇匀。吸取上述溶液 10 μ l 进样分析, 结果见表 1, 图 1。

表 1 天麻素的含量测定结果($n = 3$)

批号	含量(mg/粒)	RSD (%)
20000805	3.48	1.03
20000902	3.45	0.85
20000906	3.50	0.98

2.4 重现性实验 依样品测定步骤对同一批号样品重复分析 5 次, 结果分别为 3.48, 3.46, 3.51, 3.52, 3.49mg/粒。RSD 为 0.60%, 表明重现性较好。

2.5 精密度实验 精密吸取对照品溶液 10 μ l, 连续进样 6 次, RSD 为 0.88%, 说明仪器精密度良好。

2.6 空白样品测定 取空白样品, 按样品项下测定方法制备空白溶液, 测定。结果在天麻素相应的保留时间无吸收峰。

2.7 加样回收率实验 采用加样回收法, 取已知含

量的天麻促智胶囊内容物约 0.25g, 精密称定, 分别加入天麻素对照品, 按样品制备方法及测试条件测定, 结果见表 2。

表 2 天麻素回收率

样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
3.47	3.44	6.86	98.5		
3.52	3.43	6.92	99.1		
3.48	3.50	6.94	98.9	99.1	0.46
3.46	3.47	6.91	99.4		
3.51	3.45	6.95	99.7		

2.8 稳定性实验 取天麻促智胶囊, 依样品测定项下步骤制备样品, 每隔 2h 进行分析, 共 7 次。其 RSD 为 0.88%。表明样品在 12h 内稳定。

3 讨论

3.1 检测波长的选择 经对天麻素的紫外吸收光谱的测定, 其吸收峰波长为 221nm 和 268nm。由于在 268nm 处, 样品峰很多, 且很难分离, 又由于在 221nm 处的吸收度显著强于 268nm 处, 故选择 221nm 为测定波长。

3.2 提取时间 在样品处理时, 加甲醇 20ml, 分别超声处理 20 30 40 45min, 经测定, 结果以 30min 提取天麻素效果最好。

3.3 净化洗脱体积 样品净化时, 分别用 70% 甲醇 25 30 35 40ml 洗脱, 经测定, 结果以 30ml 洗脱效果最好。

3.4 提取溶媒 根据天麻素和其他成分的理化性质及制备工艺条件, 选择了 70% 乙醇, 90% 乙醇, 无水乙醇, 甲醇, 甲醇-异丙醇(1: 1) 为提取溶媒, 均超声 30min, 制备供试液, 经测定比较, 以甲醇为提取溶媒为佳。

3.5 除杂质方法 比较了硅胶柱和中性氧化铝柱, 结果表明上中性氧化铝柱除杂质好, 回收率高。

3.6 分离条件的比较 经过甲醇-水的不同比例(3: 97, 5: 95, 6: 94, 7: 93)、乙腈-水-磷酸(3: 97: 0.2) 的比较, 确定流动相为乙腈-水-磷酸(3: 97: 0.2), 流速为 1ml/min, 柱温 40 $^{\circ}$ C。

参考文献:

[1] 马公强, 苏达世, 朱自英. 分光光度法测定天麻中天麻素含量[J]. 药物分析杂志, 1981, (3): 165.
 [2] 黄玉仙, 黄敏, 杨华. 薄层扫描法测定天麻注射液中天麻素含量[J]. 中成药研究, 1998, 11(4): 58.
 [3] 程式之, 郝小燕, 谭宁华. HPLC 法测定天麻中天麻素含量[J]. 贵州药讯, 1985, (1): 1.