

醒脑再造胶囊中淫羊藿甙含量测定方法的研究

邓思珊¹ 张韬¹ 洪银棒² 梁辰艳³

(1福建省医学测试重点实验室(福建省医学科学研究所), 福州 350001;

2福建医科大学 2004届毕业生; 3福建中医学院 2004届毕业生)

摘要: 目的: 建立醒脑再造胶囊中淫羊藿甙含量测定的方法。方法: 采用超声提取样品, 聚酰胺柱吸附, 用 HPLC 法测定淫羊藿甙的含量。色谱柱为 Hypersil BDS(250mm × 4.0mm, 5 μ m), 流动相为乙腈-水(30:70), 检测波长为 270nm。结果: 淫羊藿甙进样量在 0.06-2 μ g 范围内线性关系良好, R=0.9996, 平均回收率为 95.79%, RSD=1.0% (n=9)。结论: 本法重现性好、准确度高、回收率较高。

关键词: 淫羊藿甙; HPLC

Study on Determination of Licaridin in Capsule of Xing nao zai zao

Deng sishan¹ Zhangtao¹ Hong yinbang² Liang chenyan³

(1 Fujian Key Laboratory of Medical Measurement (Fujian Institute of Medical Sciences), fuzhou 350001, china

2 Fujian medical university 2004 student, china 3 Fujian college of traditional Chinese medicine 2004 student, china)

Abstract Objective: setting a quantitative determination method to analyse licaridin in the capsule of xing nao zai zao. Method: The sample was extracted by ultrasonic vibrations and was absorbed by polyamide column, then was determined by HPLC system consisting of an Hypersil BDS column and a mixture of acetonitrile-water (30:70) as the mobile phase, the detection wavelength is at 270nm. Result: The response values was linear between 0.003-0.1mg/ml and the recovery of free licaridin was 95.79%, RSD=1.0%. Conclusion: the method is accurate and the recovery is high.

Keywords licaridin, HPLC

醒脑再造胶囊含三十六味药材, 具有化痰醒脑, 祛风活络的作用, 本方重用淫羊藿温肾壮阳, 强壮筋骨, 祛除风湿以除痹痛, 与黄芪、石菖蒲共为方中君药。原质量标准中无君药含量测定, 为提高该制剂质量标准, 本文进行含量测定的方法学研究, 选择淫羊藿中淫羊藿甙为该制剂的含量测定组分, 采用 HPLC 法测定淫羊藿甙的含量, 结果报道如下。

1 仪器与试剂

HP1100 高效液相色谱系统 (配置手动进样器、DAD 二极管阵列检测器)。

淫羊藿甙对照品 (中国药品生物制品检定所提供); 醒脑再造胶囊 (福州闽海药业有限公司提供); 乙腈为色谱纯; 水为双蒸水, 其他试剂为分析纯。

2 方法的建立

2.1 色谱条件

色谱柱: Hypersil ODS(250mm × 4.0mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈-水(30:70); 检测波长: 270nm; 流量: 1ml/min; 进样量: 20 μ l

色谱图见图 1, 图 2。

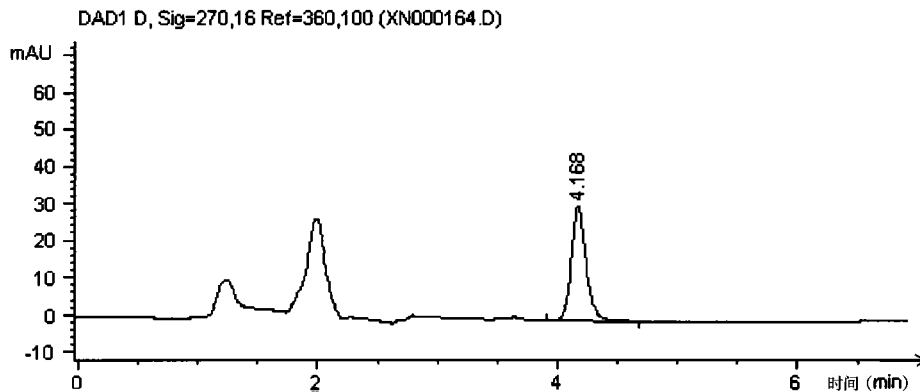


图 1 对照品色谱图

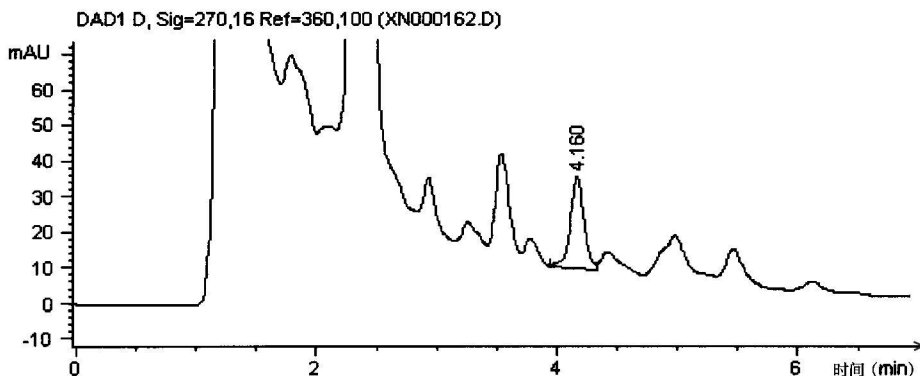


图 2 供试品色谱图

2.2 对照品溶液的制备

精密称取淫羊藿甙对照品适量,加流动相制成每 1ml 含 0.025mg 的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取醒脑再造胶囊内容物 2.5g 精密称定,精密加入 50% 乙醇 50ml 称定重量,超声提取 30min,冷却,称重,补足挥发掉的重量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 25ml 加聚酰胺 4.0g 搅拌均匀,挥干溶剂后置烘箱中至完全干燥,装入内径 10-15mm 玻璃柱中,用 50ml 水洗脱,洗液弃去,再用 95% 乙醇 100ml 洗脱,收集乙醇溶液,蒸干,残渣用流动相移至 25ml 量瓶中,流动相加至刻度,摇匀,用微孔滤膜 (0.45μm) 滤过,作为供试品溶液。

3 实验结果

3.1 线性关系考察

精密称取对照品 5.0mg 于 25ml 容量瓶中,用流动相溶剂溶解并稀释至刻度,摇匀,定容,作为储备液 (0.2mg/ml)。将此对照品溶液用流动相配制成浓度为 0.1, 0.05, 0.025, 0.0125, 0.00625, 0.

0.003125mg/ml 的标准工作溶液,分别吸取上述标准溶液各 20μl 注入液相色谱仪中,按上述色谱条件测定峰面积。以淫羊藿甙面积的积分值 A (mAU) 为纵坐标,淫羊藿甙浓度 C (mg/ml) 为横坐标,计算线性回归方程。结果为 $A = 42471.31C - 10.49$ 相关系数 $R = 0.9996$ 。

3.2 精密度试验

分别精密吸取浓度为 0.025mg/ml 的淫羊藿甙对照品溶液 20μl 连续重复进样 5 次,测定淫羊藿甙峰面积, $RSD = 0.19\%$ 。

3.3 稳定性试验

取醒脑再造胶囊一批,照 2.3 方法制成供试品溶液后立即测定,并在室温条件下分别放置 0.05, 1, 8, 24, 28 小时后测定,峰面积基本不变, $RSD = 0.52\%$ 。

3.4 重现性试验

取醒脑再造胶囊一批,照 2.3 方法制备供试品溶液,平行 6 份,测定含量, $RSD = 3.5\%$ 。

3.5 加样回收率试验

取已知含量的同一批号的醒脑再造胶囊 (淫羊

藿甙含量为 0.16mg/g) 9份, 每份 1.25g 精密称定, 按下表加入一定量的淫羊藿甙对照品, 精密加入 0.1mg/ml 对照溶液 1.6ml、1.6ml、1.6ml、2.0ml、2.0ml、2.0ml、2.4ml、2.4ml、2.4ml 按 2.3 供试品溶液的

制备方法进行处理和测定, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 回收率试验结果

n	样品称量 (g)	样品中已知的量 (mg)	加入对照品的量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	X (%)	RSD (%)
1	1.2506	0.2000	0.16	0.3521	95.06	95.79	1.0
2	1.2498	0.1999	0.16	0.3549	96.88		
3	1.2510	0.2001	0.16	0.3532	95.69		
4	1.2500	0.2000	0.20	0.3885	94.25		
5	1.2499	0.1999	0.20	0.3944	97.25		
6	1.2490	0.1998	0.20	0.3903	95.25		
7	1.2486	0.1997	0.24	0.4304	96.12		
8	1.2503	0.2000	0.24	0.4295	95.62		
9	1.2485	0.1997	0.24	0.4300	95.96		

3.6 样品测定

分别对三个不同批号样品按照上述方法进行含量测定, 测定结果见表 2。

表 2 三批不同批号醒脑再造胶囊中淫羊藿甙含量测定结果

编号	批号	淫羊藿甙含量 (mg/g)
1	040401	0.01
2	031101	0.16
3	030301	0.12

4 讨论

1 采用 HPLC 法测定醒脑再造胶囊中淫羊藿甙的含量, 结果准确, 重现性好, 回收率高, 可作为该制剂质量标准的参考。

2 在研究醒脑再造胶囊的含量测定方法时, 曾考虑选择黄芪进行含量测定, 但君药黄芪采用 HPLC 法, 由于检测器的局限不易测定, 而用薄层色谱方法测定时硫酸显色不稳定, 另 - 君药石菖蒲尚无法获得对照组分, 因此本文选择淫羊藿甙进行含量测定。

3 采用甲醇超声提取淫羊藿甙时, 对超声处理 20-60min 的结果进行比较, 表明 30min 即可提取完全, 提取时间定为 30min。

4 在提取溶剂的探寻中, 有文献报道, 用乙酸乙酯提取^{[1][2]}, 我们采用此法进行测定, 得到的色谱峰杂质虽干扰较少, 但含量很低。说明乙酸乙酯提取不完全, 得到的有效量很少。许多文献采用乙醇提取^{[3][4]}, 我们用不同浓度的乙醇进行实验对比, 分别为无水乙醇、70% 乙醇、50% 乙醇、30% 乙醇、水。经上述处理, 得知, 50% 乙醇超声提取的含

量最高, 其次为 30% 乙醇。方法学中确定用 50% 乙醇进行提取。

5 在样品预处理时, 曾用聚酰胺和氧化铝作为预处理柱, 用对照品作预试, 氧化铝比聚酰胺处理所测得的含量要低很多, 聚酰胺对黄酮类化合物具有较好的吸附作用, 用聚酰胺吸附样品, 乙醇洗脱, 可获得较好的回收率。

6 三批药材测定结果表明生产批号不同, 淫羊藿甙含量不同。由于测定样品批次有限, 未对该制剂定出最低合格限。

参考文献:

- [1] 卞慕唐, 石增荣. 反相高效液相色谱法测定古汉养生精中淫羊藿甙 [J]. 中草药, 1993, 24(1): 22
- [2] 张清波, 钱忠植. 春常在口服液质量标准研究 [J]. 中成药, 1996, 18(3): 6
- [3] 李青翠, 钟郁葱. 高效液相色谱法测定补肾壮骨丸中淫羊藿甙的含量 [J]. 中国中药杂志, 1996, 21(10): 608
- [4] 王永金, 孟宪霞. 反相高效液相色谱法测定阳春玉液中淫羊藿甙的含量 [J]. 中草药, 1996, 27(11): 664