

HPLC法测定复方参芪维 E 胶囊中王浆酸的含量

宋粉云, 毋福海, 邓 红, 钟兆健, 梁汉明*

(广东药学院, 广东 广州 510224)

复方参芪维 E 胶囊 (苏乐康) 是由人参、黄芪、蜂王浆、维生素 E 等制成的复方制剂, 为免疫增强剂和降血脂药, 具有明显提高机体免疫功能、降低胆固醇、甘油三酯的作用。蜂王浆是其主药, 具有促进新陈代谢, 增强人体免疫功能, 防衰老和抗菌、抗肿瘤等作用。王浆酸 (10-羟基-2-癸烯酸, 10-hydroxy-2-decenoic acid, 10-HDA) 是蜂王浆的主要成分。目前复方参芪维 E 胶囊的质量标准中只采用气相色谱法测定了维生素 E 的含量^[1]。本实验建立了 HPLC 测定复方参芪维 E 胶囊中 10-HDA 含量的方法, 具有分离效果好、灵敏、准确等优点, 可用于该产品的质量控制。

1 仪器与试药

岛津 LC-10AT 高效液相色谱仪, SPD-10AT 紫外-可见检测器, 大连化物所色谱工作站, PHS-25 型精密酸度计 (上海雷磁仪器厂), 10-HDA 对照品购自中国药品生物制品检定所, 甲醇为色谱纯, 氯仿、磷酸为分析纯。复方参芪维 E 胶囊 (苏乐康) 购自苏州第三制药厂。

2 色谱条件

色谱柱: Hyper ODS C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm) (大连依利特科技有限公司); 流动相: 甲醇-水 (60:40, 磷酸调 pH 至 2.5~3); 流速: 0.8 mL/min; 检测波长: 215 nm; 柱温: 室温。

3 实验方法与结果

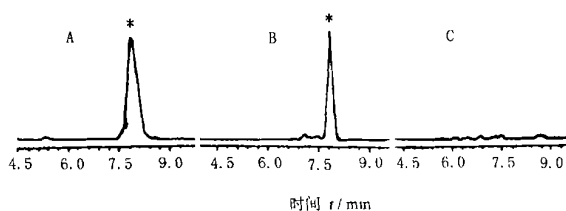
3.1 溶液的制备

3.1.1 供试品溶液: 取本品 20 粒, 精密称定, 倾出内容物, 混合均匀。精密称取约 5 g, 置具塞锥形瓶中, 加氯仿 75 mL, 密塞, 浸泡过夜, 超声提取 30 min, 过滤, 残渣用氯仿洗涤, 洗液并入滤液中。在水浴上挥干氯仿, 加甲醇溶解, 转入 25 mL 量瓶, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品原液。精密量取 2 mL 原液于 25 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 0.45 μm 滤膜过滤, 作为供试品溶液。

3.1.2 阴性样品溶液: 同法制备不含蜂王浆的阴性样品溶液。

3.1.3 对照品溶液: 精密称取经五氧化二磷干燥器减压干燥 24 h 的 10-HDA 对照品, 加甲醇溶解制成 0.530 mg/mL 的溶液, 作为 10-HDA 对照贮备液。分别吸取一定量的对照贮备液稀释成浓度为 53.0, 106, 159, 212, 265 μg/mL 的对照品溶液。

3.2 色谱系统适用性试验: 分别取对照品溶液 (159 μg/mL)、供试品溶液和阴性样品溶液 10 μL 进样, 按上述色谱条件, 测定, 色谱图见图 1。10-HDA 与样品中其他组分可达到基线分离, 10-HDA 与其相邻色谱峰的分离度大于 1.5, 理论板数以 10-HDA 峰计算不低于 10 000, 拖尾因子为 1.10。10-HDA 保留时间约为 7.8 min, 阴性样品在 10-HDA 位置无色谱峰。



* 王浆酸

* -10-HDA

图 1 王浆酸 (A)、复方参芪维 E 胶囊样品 (B) 和阴性对照 (C) 的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of 10-HDA (A), Fufang Shenqi Vitamin E Capsule (B) and blank (C)

3.3 线性与范围: 吸取 3.1.3 项下不同浓度的对照品溶液各 10 μL, 分别进样测定, 每个浓度测定 3 次以上。以峰面积对浓度进行线性回归, 回归方程为 $A = 17\,371.43 + 4\,155.26C$, $r = 0.999\,9$ 。10-HDA 在 53.0~265 μg/mL 线性关系良好。

3.4 精密度试验: 精密吸取 10-HDA 对照品溶液 (159 μg/mL), 按相同的测定方法连续进样 5 次, 其峰面积测量值的 RSD 为 1.76%。

3.5 稳定性试验: 取供试品溶液 (批号 990116) 在 0, 1, 2, 4, 8 h 分别进样 10 μL, 记录色谱图, 10-HDA 峰面积测量值的 RSD 为 1.92%。可见供试品溶液

在 8 h 内稳定

3.6 重现性试验: 取同一批号 (批号 990116) 样品 6 份,按样品提取法提取,测定,结果 10-HDA 含量为 7.37 mg /g, $RSD=0.42\%$,表明该法重现性较好。

3.7 加样回收试验: 取已知含量的复方参芪维 E 胶囊样品 (批号 990116), 分别称取 0.05, 0.1, 0.2 g 各 3 份,精密加入对照品溶液 (0.622 mg /mL) 1.00, 1.50, 2.00 mL 各 3 份,按 3.1.1 项下自“加氯仿 75 mL……”操作,直接定容至 10 mL,各进样 10 μ L,记录色谱图,计算回收率,结果见表 1

表 1 回收率实验结果 ($n=3$)

Table 1 Results of recovery ($n=3$)

称样量 /g	添加 10-HDA 的量 /mg	平均回收率 /%	RSD /%
0.05	1.244	98.3	2.0
0.10	0.933 0	98.7	1.9
0.20	0.622 0	96.6	2.6

3.8 样品测定: 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液 10 μ L,注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定,记录色谱图,以外标法计算样品中 10-HDA 的含量,结果见表 2

表 2 样品测定结果 ($n=3$)

Table 2 Results of samples determination ($n=3$)

批号	10-HDA 含量 / (mg $\cdot$ 粒 $^{-1}$)	RSD /%
990116	2.24	1.34
000828	2.19	1.64
990811	0.41	2.00
000224	0.54	0.76

4 讨论

4.1 实验中考察了甲醇、乙醇、氯仿提取的前处理方法,结果表明,甲醇、乙醇提取成分过多,造成色谱分离困难,氯仿提取成分少,容易分离,且氯仿提取的 10-HDA 量与甲醇、乙醇提取的量无差别。进行了氯仿超声提取、回流提取比较试验,由于加热造成杂质溶出增多,故选择超声提取方法。考察了超声提取 15, 20, 30, 40, 50 min 的情况,结果表明超声处理 20 min,提取量不再增加,为了保证提取完全,选择超声提取 30 min。

4.2 对流动相组成进行了研究,结果发现提高流动相的酸性可以改善色谱峰的峰型,但由于 pH 值低于 2 会造成色谱柱固定相流失,所以调节流动相 pH 值在 2.5~3。

4.3 批号为 990116 000828 的样品是棕黄色粉末,批号为 990811 000224 的样品则为严重板结的褐色固体,实验结果表明,后两个样品中 10-HDA 的含量明显降低,且其色谱图也比较复杂,显然潮湿板结的样品中 10-HDA 已变质,有文献^[2]报道 10-HDA 极易氧化分解,所以一定要注意该药品的贮存条件。

References

[1] Drug Specifications Promulgated by the Ministry of Public Health, P. R China (中华人民共和国卫生部药品标准) [S]. WS₁-(X-083)-94Z.

[2] Feng T J, Sun Y B. Determination of the levels of 10-HDA in Royal Jelly Preparations by TLC-UV spectrophotometry [J]. China Pharm (中国药房), 1993, 4(2): 13-15.

HPLC法测定化瘀通脉注射液中原儿茶醛含量

郭伟,严红,刘建萍,薛珊*

(天津中医学院第一附属医院 制剂室,天津 300193)

化瘀通脉注射液是我院石学敏院士根据中医药传统理论及多年临床经验,结合现代制药技术开发研制的中药输液型注射液,具有活血化瘀、行气止痛之功效,用于心脑血管疾病及中风康复期治疗,临床应用近 8 年,疗效显著。本实验以方中君药丹参的水溶性成分原儿茶醛为质量控制指标,采用 HPLC 法进行了含量测定,方法学研究表明,简便、准确、可靠,可作为该制剂的质量控制方法。

1 仪器与试药

Waters 高效液相色谱仪,441 紫外检测器,510 输液泵,ANASTAR 色谱工作站。FA-1104 电子天平。原儿茶醛对照品 (中国药品生物制品检定所,批号: 813-9201)。化瘀通脉注射液 (天津中医学院第一附属医院制剂室)。试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Irregular-H C₁₈ 柱 (4.6

* 收稿日期: 2001-10-12
作者简介: 郭伟 (1967-),女,主管药师,1989年毕业于天津中医学院中药系,主要从事中药制剂质量检验工作。