

HPLC法测定小儿抗痫胶囊中天麻素

赵刚¹, 张慧^{2*}

(1 天津市武清区药品检验所, 天津 301700; 2 天津宏仁堂药业有限公司, 天津 300122)

摘要:目的 建立小儿抗痫胶囊中天麻素的测定方法。方法 采用HPLC法测定。VenusiL MP C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)色谱柱; 流动相: 以乙腈0.1%磷酸(2:98); 柱温: 35℃; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长: 220 nm。结果 天麻素进样量在0.043 72~0.546 5 μg($r=0.999 9$)线性关系良好。平均回收率为100.1%, RSD为2.7% ($n=6$)。结论 本方法准确, 可靠, 可以作为小儿抗痫胶囊的质量控制标准。

关键词: 小儿抗痫颗粒; 天麻素; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2010)11-1815-02

小儿抗痫胶囊源于明代王肯堂《证治准绳·涤痰汤》, 处方组成为天麻、胆南星、太子参、茯苓、水半夏、桔红、九节菖蒲、青果、琥珀、沉香、六神曲、枳壳、川芎、羌活, 具有豁痰熄风, 健脾理气之功效, 用于原发性全身性强直、阵挛发作型儿童癫痫风痰闭阻证, 发作时症见四肢抽搐、口吐涎沫、二目上窜、甚至昏仆等。处方中天麻为君药, 主治头痛眩晕, 肢体麻木, 小儿惊风, 癫痫抽搐等^[1]。故本实验采用高效液相色谱法, 以天麻素为定量指标, 建立了小儿抗痫胶囊的测定方法, 为控制本品质量提供依据。

1 仪器与试剂

Shimadzu LC-20AD 高效液相色谱仪, 二极管阵列检测器, LC solution 工作站。天麻素(中国药品生物制品检定所购置, 批号 110807-200205)。乙腈、甲醇(色谱纯), 磷酸(分析纯), 水为去离子水。中性氧化铝(100~200目, 国药集团化学试剂有限公司生产)。小儿抗痫胶囊样品由天津宏仁堂药业有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: VenusiL MP C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为以乙腈0.1%磷酸(2:98); 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长为 220 nm; 柱温: 35℃。理论板数按天麻素峰计算不低于 8 500。

2.2 对照品溶液的制备: 取天麻素对照品适量, 精密称定, 加 50% 甲醇制成 30 μg/mL 溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备: 取装量差异的本品, 研细, 取 2 g, 精密称定, 精密加入 50% 甲醇 25 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理(功率 200 W, 频率 40 kHz) 60 min, 放冷, 再称定质量, 用 50% 甲醇补足减失的质

量, 摇匀, 3 000 r/min 离心 5 min, 精密量取上清液 3 mL, 通过中性氧化铝柱(内径 1 cm, 100~200目, 1 g), 用 50% 甲醇洗脱, 收集样品流出液及洗脱液约 9.5 mL, 至 10 mL 量瓶中, 用 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 阴性样品溶液的制备: 按处方配比, 取除天麻的各味药材, 按处方比例制得样品, 再按供试品溶液制备方法制得阴性样品溶液。

2.5 专属性试验: 分别精密吸取对照品、供试品和阴性样品溶液各 5 μL, 注入液相色谱仪, 进行分析, 结果阴性样品无干扰, 结果见图 1。

2.6 标准曲线的制备: 取天麻素对照品适量, 精密称定, 加 50% 甲醇制成 109.3 μg/mL 溶液, 再分别加 50% 甲醇稀释制成含天麻素 8.744、10.93、21.86、32.79、54.65、109.3 μg/mL 的溶液, 摇匀。分别精密吸取上述 6 种质量浓度的溶液各 5 μL, 注入液相色谱仪, 记录色谱峰面积。以质量为横坐标, 峰面积值为纵坐标, 制备标准曲线, 得回归方程 $Y=1.76 \times 10^6 X - 1.53 \times 10^3$, $r=0.999 9$ 。结果表明, 天麻素进样量在 0.043 72~0.546 5 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.7 精密度试验: 取批号 F12018 样品, 研细, 取 1 份, 制备供试品溶液, 连续进样 6 次, 每次 5 μL, 测定天麻素峰面积, 结果 RSD 为 0.17%。

2.8 稳定性试验: 取批号 F12018 样品制得的供试品溶液, 分别在 0、2、4、6、8、10、12、14 h 进样, 测定天麻素峰面积, 结果 RSD 为 0.82%。表明供试品溶液在 14 h 内测定稳定。

2.9 重现性试验: 取批号 F12018 样品, 取 6 份, 研

①收稿日期: 2010-03-22

作者简介: 赵刚(1966-), 男, 天津人, 副主任药师, 所长, 1990年毕业于天津中医学院, 从事药品检验及药品检验方法学研究。

Tel: (022) 82191008 E-mail: tjwqyjs@sina.com

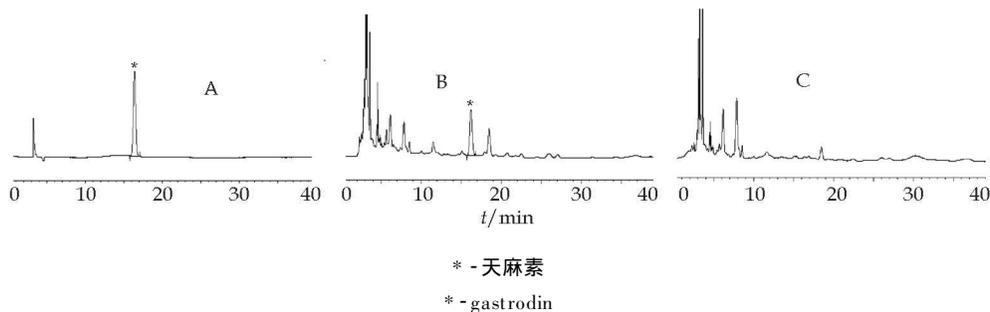


图 1 天麻素对照品 (A)、小儿抗痢胶囊 (B) 和阴性样品 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of gastrodin reference substance (A), Xiaoe Kangxian Capsula (B), and negative sample (C)

细, 制备供试品溶液, 进样分析, 测定每份样品中天麻素的质量分数, 结果天麻素平均质量分数为 473.6 μg/g, RSD 为 1.18%。

2.10 回收率试验: 取同一批号 (批号 F12018) 样品, 研细, 取 1g, 共 6 份, 精密称定, 分别精密加入 0.02186 mg/mL 天麻素对照品 50% 甲醇溶液 20 mL, 再精密加入 50% 甲醇 5 mL, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算回收率, 结果平均回收率为 100.12%, RSD 为 2.73%。

2.11 样品测定: 取小儿抗痢胶囊样品, 制备供试品溶液, 进样分析, 测定天麻素的质量分数。结果见表 1。

表 1 小儿抗痢胶囊中天麻素的测定结果 (n=2)

Table 1 Determination of gastrodin in Xiaoe Kangxian Capsula (n=2)

批号	天麻素/(μg·g ⁻¹)	天麻素/(μg·粒 ⁻¹)
F12018	474.6	237.3
G12001	463.3	231.6
G12002	460.3	230.1
H12007	485.3	242.6
H12008	486.9	243.4
I12001	490.7	245.3

3 讨论

本品为 14 味药的复方制剂, 试验发现, 供试品色谱中天麻素色谱峰受杂质干扰较大, 经二极阵列

检测器检测与天麻素对照品光谱图不完全一致, 由 220 nm 最大吸收偏移至 215~218 nm, 另在 275、308 nm 亦有较大的吸收峰。故对多种流动相系统及供试品溶液制备方法进行了对比及验证试验。

流动相的选择: 分别选用甲醇-0.1% 磷酸溶液 (3:97)^[2]、乙腈-0.1% 磷酸溶液 (2:98)、(1.6:98.4)^[3]、乙腈-0.05 mol/L KH₂PO₄ 溶液 (2:98)^[2], 结果乙腈-0.1% 磷酸 (2:98)^[4] 效果较好。

不同色谱柱的考察: 取重复性试验中的 2 份样品, 使用同台色谱仪, 分别使用 Venusil MP-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; Accurasil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱; Phenomenex C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 进样测定, 测定样品中天麻素的量。结果天麻素的平均质量分数为 0.4880 mg/g, RSD 为 2.42%。结果说明, 使用不同色谱柱, 对测定无影响。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005
- [2] 兰燕宇, 李勇军, 何迅等. 复方天麻胶囊定性定量方法的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(5): 28-30
- [3] 门金玉, 董振敏, 崔玉芹, 等. RP-HPLC 法同时测定天麻头风灵胶囊中梓醇和天麻素的含量[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(6): 964-967.
- [4] 张怡评, 陈海滨, 吴春敏, 等. 反相高效液相色谱法测定头痛定糖浆中天麻素的含量[J]. 海峡药学杂志, 2009, 21(9): 44-46

郑重声明

天津中草药杂志社 (出版《中草药》、*Chinese Herbal Medicines* (CHM)、《现代药物与临床》、《药物评价研究》) 4 本期刊) 未与任何单位或个人签署版面合作及论文代理发表协议, 凡是以天津中草药杂志社及其所属期刊的名义进行的版面合作及论文代理发表等非法活动, 均严重侵害了天津中草药杂志社的合法权益, 天津中草药杂志社保留对其采取法律行动的权利, 特此郑重声明。

希望广大作者、读者认准天津中草药杂志社门户网站“www.中草药杂志社.中国”或 www.tiprpress.com”, 切勿上当受骗; 若发现假冒天津中草药杂志社及所属期刊的情况, 请检举揭发。

电话: (022) 27474913, 23006821 E-mail: zcy@tiprpress.com

天津中草药杂志社