

高效液相色谱法测定四神片中五味子醇甲

王彧丽¹, 戴德雄²

(1 浙江省丽水市食品药品监督管理局, 浙江 丽水 323000; 2 浙江维康药业有限公司, 浙江 丽水 323000)

摘要:目的 高效液相色谱法测定四神片中五味子醇甲的量, 完善、提高四神片的质量标准。方法 Hypersil ODS 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm) (大连依利特公司); 流动相: 甲醇-水(67:33); 检测波长: 250 nm; 体积流量: 0.8 mL/min; 柱温: 室温。结果 该方法的线性范围在 7.42~89.10 μg/mL ($r=0.9999$), 平均回收率为 101.2%, RSD 为 1.84%。结论 方法可行、重复性好, 能有效控制四神片中五味子醇甲的质量。

关键词: 四神片; 五味子醇甲; 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)03-0416-02

四神片是《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第八册收载的品种, 处方组成为肉豆蔻(制) 200 g、吴茱萸 100 g、补骨脂 400 g、五味子 200 g、干姜 100 g、大枣(去核) 200 g。具有助肾散寒、止泻消胀, 的功效, 用于肾虚受寒, 肠鸣腹胀, 五更溏泻, 食物不化, 久泻不止, 面黄体弱。原标准中只是对片剂项下有关各项做检查, 无定量检测指标。本实验建立了高效液相色谱法测定四神片中五味子醇甲的测定方法, 为该产品提供了质量控制依据。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC2010AHT 高效液相色谱仪; Sartorius BP211D 电子天平(感量 0.1 mg; 0.01 mg); USC-502 超声波清洗器, TU-11901 紫外分光光度计。

五味子醇甲(批号 110857-200507, 中国药品生物制品检定所); 甲醇为色谱纯, 水为新制备的纯化水; 四神片, 0.6 g/片, 由浙江维康药业有限公司生产。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及专属性考察

2.1.1 吸收波长的选择: 五味子醇甲具有紫外吸收峰, 可以选择紫外检测器进行定量分析。对五味子醇甲在流动相中 200~400 nm 进行紫外扫描, 其在 250 nm 波长时具有最大吸收, 故选择 250 nm 作为紫外检测波长。

2.1.2 流动相的选择: 参考《中国药典》2005 年版一部五味子测定项下的流动相甲醇-水(13:7), 根据液相色谱的实际分离情况微调至甲醇-水(67:33), 分离效果良好, 分离度可以达到 2.0 以上, 达到基线分离, 且柱效较高。

2.1.3 色谱条件: Hypersil ODS 色谱柱(250 mm×

4.6 mm, 5 μm) (大连依利特公司); 流动相: 甲醇-水(67:33); 检测波长: 250 nm; 体积流量: 0.8 mL/min; 柱温: 室温。在该条件下, 五味子醇甲与其他组分均能达到基线分离($R>2.0$)。参照《中国药典》2005 年版一部附录 VI D 高效液相色谱法, 以五味子醇甲峰计算柱效, 其理论板数为 4000。为使五味子醇甲峰达到基线分离, 定量分析准确, 规定理论板数不得低于 2000。

2.2 供试品溶液的制备: 取本品 20 片, 除去包衣, 精密称定, 研细, 取约 2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 甲醇 50 mL, 称定质量, 超声处理(功率 250 W, 频率 20 kHz) 30 min, 放冷, 再称定质量, 用上述溶剂补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 25 mL, 置蒸发皿中蒸干, 残渣加甲醇使溶解, 转移至 25 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.3 对照品溶液的制备: 精密称取五味子醇甲对照品适量, 加甲醇制成 20 μg/mL 的溶液, 即得。

2.4 线性关系考察: 精密称取五味子醇甲对照品 14.85 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度。再精密吸取上述溶液 0.5、1.0、2.0、3.0、6.0 mL 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度。分别精密吸取上述溶液 10 μL 注入液相色谱仪, 记录色谱图。以峰面积的积分值为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 计算得回归方程 $Y=36.094X-41.708$, $r=0.9999$, 结果表明五味子醇甲在 7.42~89.10 μg/mL 线性关系好。

2.5 空白试验: 按处方制备除五味子以外的阴性片, 依照供试品溶液的制备项下方法制备阴性对照溶液, 同法测定, 记录色谱图, 见图 1。从五味子醇

甲对照品的 HPLC 图谱可知,五味子醇甲色谱峰的 t_R 为 14 min 左右。从空白对照色谱图中可见,除去五味子的空白对照在此范围无色谱吸收峰,可以认为其他组分对本制剂中的五味子醇甲测定无干扰。

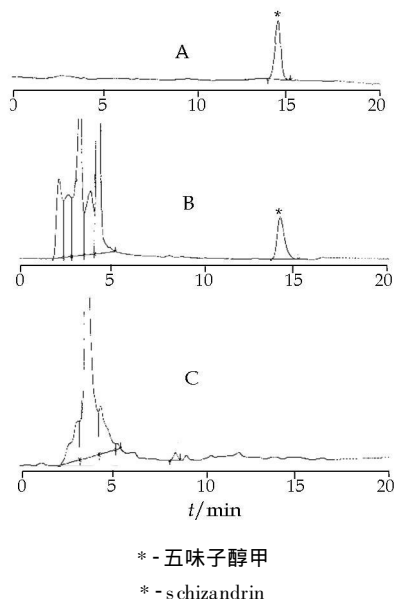


图 1 对照品(A)、四神片(B)和阴性样品(C)的 HPLC 图

Fig 1 HPLC Chromatograms of reference substance

(A), Sishen Tablets (B), and negative sample (C)

2.6 重复性试验: 选择同一批号的四神片(批号 080801), 平行制备 6 份供试品溶液, 测定五味子醇甲峰面积并计算质量分数, 结果表明五味子醇甲质量分数的 RSD 为 0.78%。

2.7 精密度试验: 在不同时间由不同的分析人员选择同一批号的四神片(批号 080801) 供试品溶液, 按照上述色谱条件, 测定五味子醇甲峰面积, 计算, 结果表明五味子醇甲质量分数的 RSD 为 1.07%。

2.8 稳定性试验: 取供试品溶液于室温(20~25℃)下放置, 分别于 0、2、4、6、8、10 h 精密吸取 10 μL 进样, 测定五味子醇甲峰面积。结果表明, 计算得其 RSD 为 0.85%, 可见供试品溶液中五味子醇甲在放置 10 h 测定, 保持稳定。

2.9 回收率试验: 取批号 080801 四神片内容物适量, 精密称取该粉末 9 份, 每份约 1 g, 添加 0.121 4 mg/mL 五味子醇甲对照品储备液 4、5、6 mL, 平行

制备供试品溶液 3 份, 取样, 注入液相色谱仪, 测定, 计算回收率, 结果平均回收率为 101.2%, RSD 为 1.84%。

2.10 样品测定: 取 7 批样品(批号 080801、080802、080803、080804、080805、080806、080807), 制备供试品溶液, 按上述色谱条件测定, 计算样品中五味子醇甲的质量分数分别为 0.32、0.33、0.32、0.31、0.31、0.30、0.32 mg/片。

3 讨论

3.1 供试品不同前处理方法的选择: 曾考察了冷浸法、回流提取法和超声提取方法对于四神片中五味子醇甲测定的影响, 结果采用冷浸法五味子醇甲量比较低, 而采用超声处理方法和索氏提取方法制备得五味子醇甲的量相差不远。因索氏提取法提取时间较长(回流至无色需 4 h 以上), 而采取超声法, 且其处理时间仅为 30 min, 即能将五味子醇甲提取完全, 操作简便。

3.2 不同提取溶剂的考察: 考察了不同体积分数的甲醇对超声处理结果的影响, 结果 50% 甲醇和 70% 甲醇超声提取后, 五味子醇甲的量均较高。但 50% 甲醇超声提取, 所得溶液较黏稠, 滤过困难, 故选择 70% 甲醇为溶媒提取。

3.3 不同色谱柱的比较: 用 Kromasil C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)、Hypersil C₁₈(150 mm × 4.6 mm, 5 μm)、Hypersil C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 3 个不同型号的色谱柱所测五味子醇甲量的 RSD 均小于 2.0%, 色谱柱对该方法基本无影响。

3.4 不同流动相比比例的比较^[1,2]: 用甲醇-水(70:30)、甲醇-水(64:36)、甲醇-水(67:33) 所测五味子醇甲量 RSD 为 1.91%, 提示流动相的比例在以上范围内对该方法基本无影响。

3.5 不同检测波长的比较: 用 240、250、260 nm 波长所测五味子醇甲量 RSD 为 1.49%, 提示检测波长在以上范围内对该方法基本无影响。

参考文献:

- [1] 金福, 石森林, 朱雨晴. 高效液相色谱法测定生脉分散片中五味子醇甲[J]. 中草药, 2009, 40(6): 912-914
- [2] 宋英姬. HPLC 法测定五子衍宗片中五味子醇甲[J]. 中草药, 2008, 39(7): 1026-1027