

HPLC 法测定参芪五味子分散片中五味子醇甲

廖彩霞¹, 戴德雄^{2*}, 诸葛周²

1. 丽水市中心医院, 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 建立 HPLC 法测定参芪五味子分散片中五味子醇甲的方法。方法 色谱柱为 Inertex-C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水 (65:35), 检测波长 250 nm, 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 35 ℃。结果 该方法的线性范围在 0.196~3.136 μg ($r=0.999\ 9$), 回收率为 99.5%, RSD 为 0.49%。结论 该方法可行、重现性好, 能有效控制参芪五味子分散片的质量。

关键词: 参芪五味子分散片; 五味子醇甲; 高效液相色谱; 质量控制; 南五味子

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)03-0505-02

Determination of schisandrol A in Shenqi Wuweizi Dispersing Tablets by HPLC

LIAO Cai-xia¹, DAI De-xiong², ZHUGE Zhou²

1. Central Hospital of Lishui, Lishui 323000, China

2. Zhejiang Welcome Pharmaceutical Co., Ltd., Lishui 323000, China

Key words: Shenqi Wuweizi Dispersing Tablets; schisandrol A; HPLC; quality control; *Kadsura longipedunculata* Finet et Gagn.

参芪五味子分散片为参芪五味子片改剂型而得, 处方组成为南五味子 180 g、党参 60 g、黄芪 120 g、酸枣仁 (炒) 30 g。其中五味子味酸, 甘, 温, 归肺、心肾经, 可收敛固涩, 益气生津, 补肾宁心; 党参是常用的补气中药, 其性平、味甘, 入脾、肺经, 具补中益气、和胃养血等功效; 黄芪味甘, 性微温, 归脾、肺经, 有补中益气之效, 现代研究表明黄芪有增强免疫力, 改善心功能, 促进机体代谢等多方面的作用^[1-3]; 酸枣仁味甘、酸, 平, 归肝、胆、心经, 可补肝、宁心、敛汗、生津。几味药合用对治疗心脾气虚而导致的失眠、神经衰弱有很好的效果^[4-6]。本实验建立 HPLC 法测定参芪五味子分散片中五味子醇甲的方法, 为有效控制该制剂质量提供依据。

1 仪器与材料

Agilent 1100 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。

五味子醇甲对照品 (批号 110857-200709) 由中国药品生物制品检定所提供。甲醇为色谱纯, 水为重蒸馏水 (自制), 其余试剂为分析纯。参芪五味子分散片 (批号 100501、100502、100503、100504、100505、100506, 规格: 0.3 g/片) 由浙江维康药业

有限公司提供。

2 方法与结果^[4,7]

2.1 色谱条件

Inertex-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水 (65:35), 体积流量 1 mL/min, 检测波长 250 nm, 柱温 35 ℃, 进样量 10 μL。分别取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液进样分析, 结果阴性无干扰, 见图 1。

2.2 溶液的制备

2.2.1 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 80 μg/mL 的溶液, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品 20 片, 研细; 取约 1.0 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定质量, 超声处理 (功率 250 W, 频率 25 kHz) 30 min, 放冷, 称定质量, 以甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液用微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 取续滤液, 作为供试品溶液。

2.2.3 阴性样品溶液的制备 按处方组成取除五味子药材外药材和辅料适量, 按参芪五味子分散片的制备工艺和供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。

2.3 线性关系考察

精密吸取五味子醇甲对照品储备液适量, 分别加甲醇制成 19.6、39.2、78.4、156.8、235.2、313.6

收稿日期: 2011-08-28

作者简介: 廖彩霞 (1966—), 女, 浙江松阳人, 副主任药师, 主要从事临床药学研究。Tel: (0578)2681423 E-mail: lslcx1966@163.com

*通讯作者 戴德雄 Tel: (0578)2950222 E-mail: ddxzyz@163.com

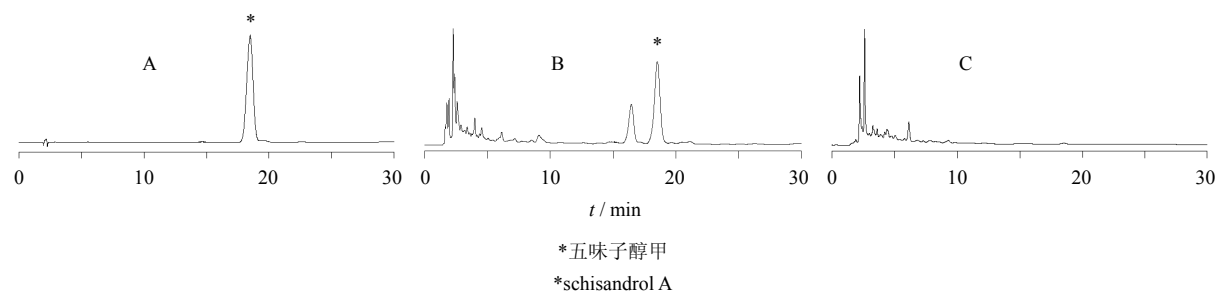


图1 对照品(A)、参芪五味子分散片(B)和阴性样品(C)的HPLC图

Fig. 1 HPLC chromatograms of reference substance (A), Shenqi Wuweizi Dispersing Tablets (B), and negative sample (C)

$\mu\text{g/mL}$ 不同质量浓度的对照品溶液, 摇匀, 作为对照品溶液, 分别精密进样 $10\ \mu\text{L}$, 按上述色谱条件进行分析, 测定峰面积, 以峰面积为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 进行线性回归, 得回归方程 $Y=1 \times 10^5 X+3\ 539.6$, $r=0.999\ 9$, 表明五味子醇甲在 $0.196\sim 3.136\ \mu\text{g}$ 与峰面积成良好的线性关系。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验 取批号 100501 的样品制备供试品溶液, 按上述色谱条件下连续进样 6 次, 测定, 计算五味子醇甲峰面积的 RSD 为 1.49%。

2.4.2 稳定性试验 取同一供试品 (批号 100501) 溶液, 分别于 0、2、4、8、16 h 进样 $10\ \mu\text{L}$, 测定, 计算五味子醇甲峰面积的 RSD 为 1.37%, 表明供试品溶液在 16 h 内稳定。

2.4.3 重现性试验 取供试样品 (批号 100501) 6 份, 制备供试品溶液, 在上述色谱条件下测定, 计算五味子醇甲质量分数。结果表明, 样品中五味子醇甲质量分数的 RSD 为 0.32%。

2.4.4 回收率试验 取样品 (批号 100501) 适量, 研细, 精密称取粉末 6 份, 每份约 0.5 g, 分别精密加入五味子醇甲对照品 0.960 8、0.960 8、1.201 0、1.201 0、1.441 2、1.441 2 mg, 制备供试品溶液, 按上述色谱条件测定五味子醇甲峰的量, 计算回收率。结果平均回收率为 99.5%, RSD 为 0.49%。

2.5 样品测定

取 6 批样品 (批号 100501、100502、100503、100504、100505、100506) 制备供试品溶液, 按上述色谱条件测定, 计算得样品中的五味子醇甲分别为 0.663、0.610、0.634、0.595、0.597、0.680 mg/片。

3 讨论

取五味子醇甲对照品溶液, 以甲醇为空白, 于 200~400 nm 波长处进行光谱扫描, 可见五味子醇甲在 250 nm 波长处有一特征吸收波长, 因此选择

250 nm 作为检测波长。

分别考察 Inertex- C_{18} (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm)、Kromasil- C_{18} (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm) 柱, 以甲醇-水 (65:35) 为流动相, 二者均达到满意的分离效果, 五味子醇甲与相邻峰分离度大于 2.0, 色谱柱对该方法基本无影响。

选用甲醇-水 (65:35) 与甲醇-水 (60:40) 为流动相, 均达到满意的分离效果, 五味子醇甲峰已达基线分离, 峰形对称; 选取甲醇-水 (65:35) 作为流动相五味子醇甲峰保留时间相对较短, 分离效果较佳。

考察了回流提取法和超声提取法对参芪五味子分散片中五味子醇甲定量测定的影响, 采用回流制备样品, 其五味子醇甲提取量与超声相当, 但方法相对较繁琐, 所以选择以超声提取法制备供试品。

分别考察超声处理 (功率 250 W, 频率 25 kHz) 20、30、45 min 对参芪五味子分散片中五味子醇甲定量测定的影响, 30 min 五味子醇甲基本被提取出来, 所以超声提取 30 min 即可。

参考文献

- [1] 杨巧红. 黄芪抑制小鼠胸腺淋巴细胞凋亡与促进增殖的作用 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2008.
- [2] 孔祥鹤, 牛银波, 王婷梅, 等. 黄芪多糖对大鼠原代成骨细胞的影响及其机制研究 [J]. 中草药, 2011, 42(10): 2065-2069.
- [3] 张 萌, 杨育红. 黄芪及其有效成分对实验性心衰的影响及其机制研究 [D]. 锦州: 辽宁医学院, 2011.
- [4] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [5] 胡幼红. 参芪五味子片对老年小鼠的抗衰老及促智作用 [J]. 中医药临床杂志, 2005, 17(2): 152-153.
- [6] 刘振亮, 田 伟, 安申之. 参芪五味子片治疗神经衰弱 32 例疗效分析 [J]. 中国民康医学杂志, 2003, 15(11): 694.
- [7] 刘秋丽, 左冬冬. 五味子糖浆中五味子醇甲含量测定 [J]. 中医药信息, 2010, 27(3): 63.