

RP-HPLC 法测定健脑安神片中淫羊藿苷的含量

★ 涂海龙 敖辉 (江西药都樟树制药有限公司 樟树 331200)

关键词:健脑安神片;RP-HPLC 法;淫羊藿苷

中图分类号:R 289.5 文献标识码:B

健脑安神片由黄精(蒸)、淫羊藿、枸杞子、熟地黄、五味子等十六味组成。方中淫羊藿中成分明确,且含量较高,故确定以淫羊藿苷为测定指标,进行定量控制。

1 仪器与试药

Agilent1200 高效液相色谱仪;Agilent 检测器,Agilent 色谱工作站,淫羊藿苷对照品(批号 0737-200111,中国药品生物制品检定所),乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯,健脑安神片(由江西药都樟树制药有限公司提供)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱:十八烷基硅烷键合硅胶柱(Waters 3.9×150 mm);流动相:乙腈-水(25:75);检测波长:270 nm;柱温 35℃,流速 0.8 ml/min。

在此条件下淫羊藿苷与其它组分均能达到很好的分离,主峰与最近的杂质峰的分度大于 1.5,理论板数均大于 3000。

2.2 检测波长的确定 取淫羊藿苷对照品溶液进行紫外扫描,得吸收曲线,结果最大吸收峰为 270 nm,与文献报道一致,因此选用 270 nm 波长作为检测波长。

2.3 流动相选择 根据资料查找,曾以甲醇-水(53:47)、乙腈-水不同比例等多种流动相体系进行试验,结果制剂中的其它组分与淫羊藿苷不能有效分离,而乙腈-水(30:70)流动相体系,淫羊藿苷与其它组分分离完全,结果满意。

2.4 对照品溶液的制备 精密称取在 105℃ 干燥至恒重的淫羊藿苷对照品适量,加 50% 的甲醇溶液制成每 1 ml 含 40 μg 的溶液,即得。

2.5 供试品溶液的制备 取本品 20 片,除去糖衣,精密称定,研细,取约 3 g,精密称定,置 50 ml 具塞锥形瓶中,精密加 50% 甲醇溶液 25 ml,称定重量,超声处理(功率 120 W,频率 59 kHz)30 分钟,放冷,再次称量,用 50% 甲醇溶液补充减失重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

另试验过程中,对比了不同超声处理时间对含量结果的影响,结果证明超声处理时间为 30 分钟,此时制剂中的淫羊藿苷可充分提出。

2.6 空白试验 原方去淫羊藿,依制备工艺制成阴性样品,再按供试品溶液制备方法制成阴性样品溶液,按正文含量测定方法进行测定,结果表明阴性对照对本法无干扰。

2.7 线性关系的考察 精密称取淫羊藿苷对照品 10.6 mg,置 50 ml 量瓶中,加甲醇使溶解,并稀释至刻度,摇匀(212

μg/ml),再分别精密吸取适量,用 50% 甲醇溶液稀释成不同浓度的对照品溶液 8.48、21.2、42.4、64.6、84.8 μg/ml。分别精密吸取上述不同浓度的对照品溶液各 20 μl,按正文中色谱条件分析,测定峰面积。

以峰面积积分值为纵坐标,淫羊藿苷的量为横坐标绘制标准曲线,计算得回归方程: $y = 4\,308\,859X \pm 191\,846$, $r = 0.998\,4$ 。表明淫羊藿苷在 0.169 1~1.696 μg 范围内具有良好线性关系。

2.8 稳定性试验 取本品(批号:20070501),依供试品溶液制备方法制成供试品溶液,再吸取此供试品溶液 20 μl,注入液相色谱仪,每隔一定时间进样测定一次,在放置 8 小时内,峰面积基本一致。表明淫羊藿苷的 50% 甲醇溶液在放置 8 小时内稳定。

2.9 精密度试验 精密吸取对照品溶液(21.2 μg/ml)20 μl,重复进样 5 次,淫羊藿苷面积积分值的相对偏差小于 2%,表明此法精密度良好。

2.10 重复性试验 分别取同一批健脑安神片样品(批号:20070502)5 份,按正文中含量测定项下方法试验,测定淫羊藿苷的含量,结果淫羊藿苷含量的相对标准偏差小于 2%,表明此法重复性良好。

2.11 回收率试验 采用加样回收法。取同一批已知含量的健脑安神片(批号:20040501,含量 0.302 mg/g),取样品约 1.5 g,共 5 份,分别精密称定,各定量加入淫羊藿苷对照品适量;按正文中含量测定项下方法测定淫羊藿含量,平均回收率为 99.9%, $RSD(\%) = 1.99$ 。

2.12 样品含量测定及限度制定 取本品十批,按正文中含量测定项下方法试验,分别测定十批样品中淫羊藿苷的含量。结果淫羊藿苷($C_{33}H_{40}O_{15}$)的含量定每批的每片均不低于 0.03 mg,故可将限度定为每片含淫羊藿以淫羊藿苷($C_{33}H_{40}O_{15}$)计,不得少于 0.030 mg。

3 结论

试验过程中发现,当对照品溶液及供试品溶液采用 50% 甲醇溶液作为溶剂,比用纯甲醇所得色谱图峰形要好,但供试品溶液色谱图杂质稍多,可是不影响主峰,故确定采用 50% 甲醇溶液作为溶剂。本试验方法简便、灵敏、专属性强,可以有效地控制本品的质量。

(收稿日期:2008-07-23)