

RP-HPLC 法测定更年舒片中五味子甲素的含量

★ 欧阳辉 徐伟亚 杨艳平 李霞兰 王跃生 杨世林 (中药固体制剂制造技术国家工程研究中心 南昌 330006)

摘要:目的:建立更年舒片中五味子甲素的 HPLC 含量测定方法。方法:采用反相高效液相色谱(RP-HPLC)法测定更年舒片中五味子甲素的含量,色谱柱为 Hypersil ODS-C₁₈柱(250×4.6 mm,5 μm),流动相为乙腈-甲醇-水(15:15:10),流速为 1 mL·min⁻¹,检测波长为 254 nm。结果:五味子甲素与样品中其它成分分离良好,线性范围 0.023 2~0.580 6 μg($r=0.999\ 7$),平均回收率为 96.5%。结论:RP-HPLC 法用于更年舒片中五味子甲素的含量测定,灵敏度高、操作简便、结果准确。

关键词:RP-HPLC;更年舒片;五味子甲素;含量测定

中图分类号:TQ 460.7⁺2 **文献标识码:**A

更年舒片收载于《卫生部药品标准·中药成方》14 册^[1],由熟地黄、五味子、益母草、阿胶、山药等药味组成,具有滋补肝肾,养阴补血,化瘀调经,调气温肾,营养神经,调节代谢之功效,适用于更年期障碍引起的月经不调,头昏,心悸,失眠等。原部颁标准中未收载其含量测定方法。方中五味子具有敛肺滋肾,生津敛汗,涩精止泻,宁心安神之效,用于精神不安、失眠健忘、虚烦不眠、夜寐多梦等症,为方中主要有效成分之一。本实验采用 RP-HPLC 法对方中五味子甲素进行含量测定,为评价更年舒片质量提供一种准确可靠的分析方法。

1 仪器和试剂

HP1100 型高效液相色谱仪,DAD 型紫外检测器,Mettler 分析天平(梅特勒-托利多)。五味子甲素对照品(0764-200005,中国药品生物制品检定所)。甲醇、乙腈均为色谱纯,水为蒸馏水(经 MILLIPORE 纯化仪),其余试剂为分析纯。更年舒片(20041105,20041106,20041107)由西安千禾药业有限责任公司提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱:Hypersil C₁₈(5 μm,250 mm×4.6 mm);流动相:乙腈-甲醇-水(15:15:10);检测波长:254 nm;进样量 10 μL;流速:1 mL·min⁻¹。

2.2 对照品溶液的制备 取五味子甲素约 1mg,精密称定,置 10mL 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,备用。

2.3 线性关系考察 精密量取对照品溶液 0.2、0.5、1、2、5 mL,置 10 mL 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,按上述色谱条件,分别进样,测定峰面积。以五味子甲素对照品峰面积(A 为纵坐标,进样量 W ,μg)为横坐标绘制标准曲线,回归方程($n=6$)为 $A=4.34 \times 10^3 W + 10.4$, $r=0.999\ 7$,表明五味子甲素在 0.023 2~0.580 6 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.4 供试品溶液的制备 取更年舒片 20 片,除去糖衣,研细,混匀,取约 2.5 g,精密称定,置 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,称重,超声 30 分钟,放冷,再称重,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,弃去初滤液,取续滤液,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,即得。

2.5 阴性对照品溶液的制备 按更年舒片的处方制备不含五味子药材的阴性对照,照供试品制备项下同法操作,即得。

2.6 精密度试验 取更年舒片,按“2.4”项下同法操作制备

供试品溶液,取该溶液,重复进样 5 次,测定五味子甲素峰面积,得其 RSD 为 1.24% ($n=5$),结果表明仪器精密性良好。

2.7 重复性考察 同一批样品(20041105)5 份,分别按供试品溶液制备项下方法操作,制备供试品溶液 5 份,进样 10 μL,测定峰面积,得其 RSD 为 0.89% ($n=5$),结果表明本方法重复性良好。

2.8 稳定性考察 取样品溶液 10 μL,在 0、1、3、5、7 小时进样,测定,峰面积,得其 RSD 为 1.05% ($n=5$),表明供试品溶液在 7 小时稳定。

2.9 样品测定 取更年舒片(20041105,20041106,20041107),按供试品溶液制备项下方法制备供试品溶液。进样测定,记录色谱峰面积,外标法计算,结果见表 1。

表 1 更年舒片中五味子甲素的含量($n=3$)

批号	五味子甲素含量 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	$RSD(\%)$
20041105	0.142	0.67
20041106	0.112	1.21
20041107	0.106	0.92

3 讨论

五味子中主要化学成分为含多种木质素类化合物,其中五味子甲素为主要有效成分,因此研究建立更年舒片五味子甲素含量测定方法,对更好的控制更年舒片的内在质量有重要意义。实验曾选用甲醇-水^[1],乙腈-水,乙腈-甲醇-水^[2]体系作为流动相,并以不同配比进行了实验,结果采用乙腈-甲醇-水(15:15:10)时,五味子甲素峰形良好,在样品中和其他杂质峰达到基线分离。

文献多采用正己烷、氯仿、甲醇为溶剂,超声提取或索氏提取^[3]。本文通过对比三种溶剂两种提取方法的提取效果,结果表明正己烷、氯仿提取杂质较多,索氏提取和超声提取效果相当,故选用成本低廉、方法简单的甲醇超声提取。

参考文献

- [1]仲昭庆,王清华.高效液相色谱法测定护肝片中五味子甲素的含量[J].中草药,1996,27(4):215
- [2]崔兰贵,王火.HPLC 法测定更年安片中五味子甲素和五味子乙素的含量[J].中草药,2001,32(5):409~411
- [3]白淑芳,陈虹.HPLC 法测定华中五味子中五味子甲素含量[J].天津药学,2001,13(3):67~68

(收稿日期:2006-03-17)