

HPLC 同时测定复方益肝灵片中水飞蓟宾、五味子醇甲的含量

徐莱¹, 陈小清², 毛晓敏², 武丽平², 毛友昌² (1. 江西科技师范学院, 南昌 330013; 2. 江西昌洪国药研究所, 南昌 330096)

摘要:目的 建立用 HPLC 同时测定复方益肝灵片中水飞蓟宾、五味子醇甲的含量。方法 Diamonsil C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水, 梯度洗脱为 0→60 min (甲醇 40%→75%, 水 60%→25%), 检测波长: 水飞蓟宾 287 nm, 五味子醇甲 250 nm。结果 水飞蓟宾和五味子醇甲分别在 4.96~39.68 μg·mL⁻¹ ($r=0.9998$) 和 4.00~32.00 μg·mL⁻¹ ($r=0.9998$) 内呈良好的线性关系, 平均加样回收率分别为 98.8% 和 99.5%, RSD 分别为 0.96% 和 0.59%。结论 该方法简便、快速、重复性好, 可用于复方益肝灵片的质量控制。

关键词: 复方益肝灵片; 水飞蓟宾; 五味子醇甲; 高效液相色谱法; 含量测定

中图分类号: R917.101; R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2009)04-0305-03

Simultaneous Determination of Silymarin and Schizandrol in Compound Yi Ganling Tablets by HPLC

XU Lai¹, CHEN Xiaoqing², MAO Xiaomin², WU Liping², MAO Youchang² (1. Jiangxi Science and Technology Normal University, Nanchang 330013, China; 2. Jiangxi Changhong Chinese Medicine Institute, Nanchang 330096, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To simultaneously determine the content of silymarin and schizandrol in compound Yi Ganling tablets by HPLC. **METHODS** The analytical column was a Diamonsil C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm). The mobile phase consisted of methanol - water. The gradient condition was 0→60 min, methanol 40%→75% and water 60%→25%. The detection wavelengths of silymarin and schizandrol were at 287 nm and 250 nm. **RESULTS** The calibration curves of silymarin and schizandrol were in good linearity over the ranges of 4.96 - 39.68 μg·mL⁻¹ ($r=0.9998$) and 4.00 - 32.00 μg·mL⁻¹ ($r=0.9998$), the average recoveries were 98.8% and 99.5%, RSD were 0.96% and 0.59%. **CONCLUSION** The method is simple, rapid, reliable and can be used for the drug control.

KEY WORDS: compound Yi Ganling tablets; silymarin; schizandrol; HPLC; determination

复方益肝灵片由水飞蓟素、五仁醇浸膏组成, 具有益肝滋肾、解毒祛湿的功效, 临床用于肝肾阴虚, 湿毒未清引起肋痛, 纳差, 腹胀, 腰酸乏力, 尿黄等症; 或用于慢性肝炎转氨酶增高者, 疗效确切。其质量标准为国家药品标准中药成方制剂第十二册收载^[1], 标准中采用 UV 法测定水飞蓟素含量 (以水飞蓟宾计), 未对制剂中的五仁醇进行含量测定。文献资料对本制剂的质量研究仅限于用 HPLC 分别测定制剂中水飞蓟宾和五味子醇甲的含量^[2-3]。本文采用 HPLC 同时测定制剂中水飞蓟宾及五味子醇甲的含量, 方法重复性好, 专属性强, 操作上更为简便、快速, 为该制剂的研究和质量控制提供了更有价值的手段, 同时也对复方制剂的质量控制方法进行了有益的探索。

1 仪器与材料

SHIMADZU LC-10ATvp 高效液相色谱仪 (LC-10ATvp 泵, SPD-10Avp 紫外检测器, 日本岛津); N2000 色谱数据工作站 (浙江大学智能信息工程研

究所); TU-1901 型紫外可见分光光度计 (北京普析通用)。

水飞蓟宾对照品 (0856-200203), 五味子醇甲对照品 (0857-9601), 均购自中国药品生物制品检定所; 复方益肝灵片 (由江苏中兴药业有限公司提供, 批号: 20050607、20050701、20050718), 阴性样品 (自制)。甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯, 水为新鲜制备的超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-水, 梯度洗脱为 0→60 min (甲醇 40%→75%, 水 60%→25%), 检测波长: 水飞蓟宾 287 nm, 五味子醇甲 250 nm (30 min 处波长由 287 nm 切换为 250 nm); 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 柱温: 25 °C; 理论板数: 按水飞蓟宾峰计算应不低于 5 000、按五味子醇甲峰计算应不低于 2 000; 分离度: 应不小于 1.5; 阴性样品无干扰, 见图 1。

作者简介: 徐莱, 女, 副教授 Tel: 13907099776 E-mail: xulai_62@126.com

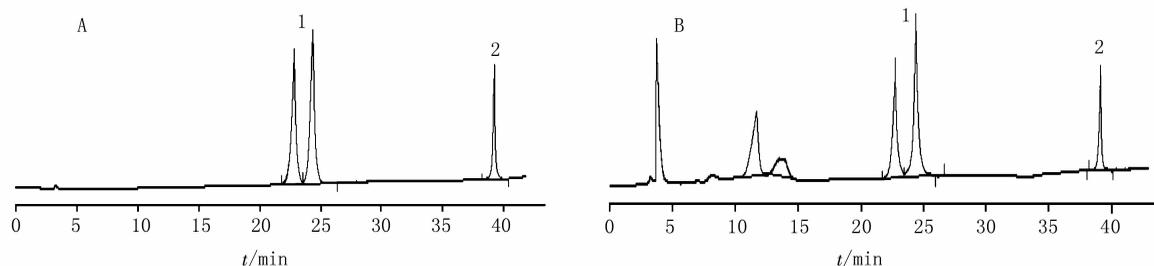


图1 对照品(A)与样品(B)HPLC 色谱图

1 - 水飞蓟宾对照品;2 - 五味子醇甲

Fig 1 HPLC chromatograms of reference substance(A) and preparation(B)

1 - silymarin;2 - schizandrol

2.2 对照品溶液的制备

分别精密称取水飞蓟宾对照品、五味子醇甲对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含水飞蓟宾 20 μg 、五味子醇甲 12 μg 的混合对照品溶液,即得。

2.3 供试品溶液的制备

取本品 10 片,研细,混匀,精密称取 0.2 g,置 100 mL 具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,称定重量,加热回流 1 h,放冷,再称定重量,用甲醇补足缺失的重量,取上清液用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液,即得。

2.4 阴性样品溶液的制备

按制剂处方比例制备阴性样品,按“2.3”项下方法制得阴性样品溶液。

2.5 线性关系考察

精密称取水飞蓟宾对照品 4.96 mg、五味子醇甲对照品 4.00 mg,置 100 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,分别精密吸取 1.0,2.0,4.0,5.0,6.0,8.0 mL 至 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,分别精密吸取 20 μL ,依次注入液相色谱仪,记录色谱图,以峰面积对浓度($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)进行线性回归。结果水飞蓟宾在 4.96 ~ 39.68 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内呈良好的线性关系,线性方程为 $Y = 27\ 098X - 207.29$, $r = 0.999\ 8$;五味子醇甲在 4.00 ~ 32.00 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内呈良好的线性关系,线性方程为 $Y = 25\ 403X - 627.76$, $r = 0.999\ 8$ 。

2.6 仪器精密度试验

精密吸取混合对照品溶液重复进样 6 次,记录色谱图,结果水飞蓟宾峰面积 RSD 为 0.55%,五味子醇甲峰面积 RSD 为 1.07%,表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

取同一供试品溶液分别于 0,2,8,24,48 h 进

样,记录色谱图,结果水飞蓟宾峰面积 RSD 为 1.86%,五味子醇甲 RSD 为 1.73%,表明供试品溶液在 48 h 内稳定。

2.8 重复性试验

精密称取同一批样品 6 份,按“2.3”项下所述方法制备供试品溶液,进样测定,记录色谱图,计算各组分含量,结果水飞蓟宾含量 RSD 为 1.73%,五味子醇甲含量 RSD 为 1.63%,表明重复性良好。

2.9 加样回收率试验

取已知含量的样品 9 份,精密称定,分别精密加入对照品溶液适量,按“2.3”项下操作,进样测定,计算平均加样回收率。结果水飞蓟宾的平均加样回收率为 98.8%,RSD 为 0.96%;五味子醇甲的平均加样回收率为 99.5%,RSD 为 0.59%。

2.10 样品测定

取复方益肝灵片样品,按上述测定方法测定样品中含量,结果见表 1。

表 1 样品测定结果($n = 3$)

Tab 1 The results of the sample determination($n = 3$)

批号	平均含量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$		RSD/%	
	水飞蓟宾	五味子醇甲	水飞蓟宾	五味子醇甲
20050607	43.74	2.66	1.05	1.26
20050701	43.09	2.74	0.83	1.04
20050718	44.12	2.51	1.32	1.35

3 讨论

3.1 检测波长的选择

分别取水飞蓟宾对照品溶液、五味子醇甲对照品溶液在 200 ~ 400 nm 处扫描,水飞蓟宾在 287 nm 处有最大吸收,五味子醇甲在 250 nm 处有最大吸收,结合文献确定水飞蓟宾的检测波长为 287 nm,五味子醇甲的检测波长为 250 nm。

3.2 色谱条件的选择

曾采用文献中流动相甲醇-水(13:7)进行试验^[4],结果水飞蓟宾色谱峰未分开,五味子醇甲色

谱峰拖尾,理论板数较低。调整流动相比例为甲醇-水(60:40)、甲醇-水(50:50)、甲醇-水(45:55),结果仍不够理想。鉴于等度洗脱的效果不理想,因此采用梯度洗脱,经反复摸索采用本文所述的梯度,不仅分离效果良好且有效地缩短了分析时间。

REFERENCES

[1] The Standard of Drugs by the Health Department of China. Vol XII(卫生部药品标准.第十二册)[S]. 1997:126.

- [2] LIN H, XIAO Y P, HUANG Y, et al. Determination of silymarin in compound Yi Ganling capsules by HPLC [J]. Hunan J Tradit Chin Med(湖南中医杂志), 2004, 20(3):72.
- [3] CHEN H, HU X G, ZHANG L, et al. Determination of schizandrol in compound Yi Ganling tablets by HPLC [J]. Med J Chin PAPF(武警医学), 2003, 14(12):737-738.
- [4] OU J M, LUO J H. Determination of schizandrol in Shanmai Yin by HPLC [J]. J Anhui Tradit Clin Med Coll(安徽中医学院学报), 2006, 25(1):33-35.

收稿日期:2007-04-24