

HPLC 法测定无敌丹胶囊中龙血素 A 的含量^{*}

袁文娟, 高文分

(云南省食品药品检验所, 云南昆明 650011)

[摘要] 目的: 建立用液相色谱法测定无敌丹胶囊中龙血素 A 的含量。方法: 采用 Agilent ZORBAX XDB C₁₈ 柱 (4.6 × 250mm 5μm), 流动相为冰醋酸溶液 (1→90) — 乙腈 (63:37), 流速 1.0mL · min⁻¹, 检测波长 260nm。结果: 线性范围 6.58 ~ 65.8 μg · mL⁻¹, r = 0.99999; 平均回收率为 99.3%, RSD = 1.45% (n = 6)。结论: 该法快速、准确、可靠; 可作为无敌丹胶囊的质量控制。

[关键词] 液相色谱法; 无敌丹胶囊; 龙血素 A; 含量

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 1000—2723(2010)04—0012—03

无敌丹胶囊收载于《卫生部药品标准》第二十册, 由黄芪、杜仲、续断、肉苁蓉、苏木、川芎、没药 (制)、淫羊藿、血竭、三七、当归等 20 味中药组成, 具有益气活血, 滋补肝肾, 祛风除湿, 消肿止痛之功效。用于气虚血瘀、肝肾不足引起的骨性关节炎 (骨质增生, 骨折)^[1]。无敌丹胶囊主治因肝肾不足, 气血两虚, 复感风寒湿邪而发之痹证, 补肝肾, 益精髓, 益气血, 强筋骨、化瘀血, 通经络, 风湿可去, 痹痛能除。通过临床试验观察, 此药对骨性关节炎的多个症状表现出良好的治疗效果, 尤其是对关节、肌肉疼痛疗效最佳, 是日常家庭必备治疗骨关节风湿疼痛、骨质增生的良药^[2]。该药能明显抑制大鼠剂型关节炎模型的足肿胀率等, 有明显止痛作用^[3]。无敌丹胶囊质量标准中缺少含量测定项, 药品内在质量难以评定, 本文建立了液相色谱法测定药品中龙血素 A 的含量, 为无敌丹胶囊的质量控制提供了科学依据。

1 仪器和试剂

Agilent1100 高效液相色谱仪, 带四元泵; VWD 可变波长紫外检测器; 自动进样器; 在线真空脱气机; 智能化柱温箱及 HP 化学工作站; 乙腈为 HPLC 级, 水为超纯水。龙血素 A 对照品 (中国药品生物制品检定所含量测定用, 批号: 111660-200402)。6 批无敌丹胶囊样品均由昆明无敌制药有限公司提供。

2 色谱条件

色谱柱: Agilent ZORBAX XDB C₁₈ 柱 (4.6 × 250mm 5μm); 流动相: 冰醋酸溶液 (1→90) — 乙腈 (63:37); 流速: 1.0mL · min⁻¹; 柱温: 30℃; 检测波长: 260nm; 进样量: 10μL。

3 溶液的配制

3.1 对照品溶液的配制

精密称取龙血素 A 对照品适量, 加甲醇制成每 1mL 含龙血素 A 30μg 的溶液, 即得。

3.2 供试品溶液的配制

取本品装量差异项下的内容物, 混匀, 取约 0.5g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25mL, 密塞, 称定重量, 超声处理 (功率 250W, 频率 33KHz) 30min, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 用 0.45μm 的微孔滤膜过滤, 即得。

3.3 阴性样品溶液的配制

取不含龙血素的阴性样品制剂, 按上述供试品溶液制备方法制备, 即得阴性样品溶液。

4 方法与结果

4.1 系统适用性

将上述 3 种溶液按上述色谱条件进样, 记录色谱图。在此色谱条件下, 龙血素 A 与其它成分均能达到基线分离, 无敌丹胶囊中的其它成分对龙血素 A 的含量测定无干扰。结果见图 1。

* 收稿日期: 2010—04—11 修回日期: 2010—05—10

作者简介: 袁文娟 (1979~), 女, 云南曲靖人, 主管药师, 主要从事中药分析。

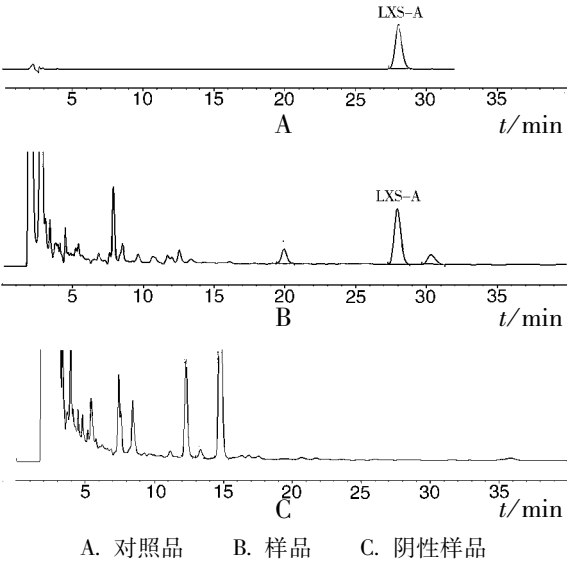


图 1 无敌丹胶囊液相色谱图

4.2 线性关系

精密称取龙血素 A 对照品适量，置量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，摇匀，再以甲醇稀释至一系列浓度的对照品溶液，按上述色谱条件分别进样 10uL，记录色谱图，以峰面积 (y) 对进样浓度 (x) 作回归统计，得回归方程为 $y = 23343.3X - 3.63$ ， $r = 0.99999$ (n = 10)，线性范围为 6.58 ~ 65.8ug · mL⁻¹。

4.3 精密度试验

取“3.1”项下的对照品溶液，按上述色谱条件，连续进样 6 次，测得 RSD 为 1.54%。表明仪器精密度良好。

4.4 稳定性试验

取同一供试品溶液，分别于 0，4，9，14，19，24h 进样测定并计算峰面积的比值。测得 RSD 为 2.01%。表明供试品溶液在制备后 24h 内基本稳定。

4.5 重复性试验

取同一样品，平行制备 5 份供试品溶液，按上述色谱条件测定并计算。测得 RSD 为 0.78%。表明方法的重现性良好。

4.6 加样回收率试验

精密称取已知含量的同一样品 0.25g，共 6 份，加入一定量的龙血素 A 对照品溶液，挥干溶液，按“2.2”项下供试品溶液制备成加样回收率供试液，并依法测定，结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果 (n = 6)

样 品 理论量 /mg	加入量 /mg	实测量 /mg	回收率 /%	平 均 回收率 /%	RSD /%
0.4438	0.4412	0.8894	101.00	99.3	1.45
0.3927	0.4412	0.8376	100.84		
0.4277	0.4412	0.8605	98.10		
0.4413	0.4412	0.8715	97.51		
0.4309	0.4412	0.8696	99.43		
0.4357	0.4412	0.8708	98.62		

4.7 含量测定

取不同批次的无敌丹胶囊样品，按供试品溶液的配制项下制备供试品溶液，每个批次的样品平行制备 2 份，测定龙脑的含量，结果见表 2。

表 2 无敌丹胶囊中龙血素 A 的含量 (n = 2)

样品批号	龙血素 A (mg/粒)
20050801	0.651
20050902	0.516
20051101	0.521
20051201	0.564
20060201	0.598
20060202	0.601
20060701	0.615
20081202	0.698
20090402	0.609
20091101	0.739
20050801	0.651
20050902	0.516

5 讨论

5.1 检测波长的选择

试验采用紫外可见分光光度计对龙血素 A 的甲醇溶液于 200 ~ 400nm 波长范围内进行扫描，结果于 260nm 处有最大吸收，故选取 260nm 为样品检测波长。

5.2 流动相的选择

本次试验参照文献考察了不同的流动相系统：乙腈 - 0.4% 磷酸、冰醋酸溶液（1→90）—乙腈^[4]、冰醋酸溶液（1→90）—甲醇^[5]，结果表明，以冰醋酸溶液（1→90）—乙腈（63：37）为流动相时，龙血素 A 的分离度，理论塔板数、峰的对称性及出峰时间达到满意的结果。

5.3 提取溶剂的选择

龙血素 A 为二氢查耳酮类化合物，易溶于甲醇、乙醇水，不溶于水。考察了不同浓度的甲醇、乙醇为溶剂的提取结果，结果表明纯甲醇的龙血素 A 提取率最高。故选择纯甲醇作为提取溶剂。

5.4 样品提取方法的选择

本品方中龙血竭为生粉加入，本次试验分别考察了以甲醇为溶剂的两种提取方法，分别为加热回流法，超声法。这两种提取方法中龙血素 A 的含量无显著性差别。考虑到超声法与加热回流法相比，超声法更简单，易行，快捷，故采用超声法，以甲醇为提取溶剂。此外，本次试验对超声时间进行了考察，依次测定了超声提取 5，10，15，

30min 以及 60min 龙血素 A 含量测定的结果。结果表明采用纯甲醇为溶剂，超声提取 30min 时，龙血素 A 成分提取完全。

本次试验建立的高效液相色谱法测定无敌丹胶囊中龙血素 A 的含量，该法灵敏、快速、准确，可用于无敌丹胶囊的质量控制。

[参考文献]

- [1] 卫生部药品标准·第二十册. WS3—B—3875—98 [S]. 1998 : 170.
- [2] 王琦, 何渝煦, 王会. 无敌丹胶囊治疗老年性骨性关节炎 256 例疗效观察 [J]. 现代康复, 2000, 4 (12): 125.
- [3] 张晓冬. 无敌丹胶囊毒理学实验研究 [J]. 云南中医学院学报, 1998, 21 (2): 11 - 13.
- [4] 李忠琼, 向东. HPLC 测定龙血竭中龙血素 A 和龙血素 B 的含量 [J]. 华西药学杂志, 2005, 20 (4): 348 - 349.
- [5] 胡迎庆, 崔兰贵, 韩慧文, 等. HPLC 测定龙血竭胶囊中二氢查耳酮 (龙血素 A) 的含量 [J]. 武警医学院学报, 2001, 10 (2): 96 - 97.

(编辑 : 岳胜难)

Determination of Loureirin A in Wudidan Capsules by HPLC

YUAN Wen - juan , GAO Wen - fen

(Yunnan Institute for Drug Control , Kunming Yunnan 650011 , China)

[**ABSTRACT**] Objective : A specific HPLC method was developed for the measurement of Loureirin A in Wudidan Capsules . Methods : The sample was analyzed on Agilent ZORBAX XDB C18 (250mm × 4.6mm , 5μm) column with mobile phase consist of acetic acid (1→90) - acetonitrile (63:37) at flow rate of 1.0ml. min⁻¹ and the detection wavelength was 260nm. Results : The calibration curves of Loureirin A was in good linearity over the ranges of 6.58ug · mL⁻¹ ~ 65.8ug · mL⁻¹ , r was 0.99999 , and the average recoveries (n = 6) were 99.3% and RSD was 1.45% . Conclusion : The method is simple , rapid and accurate and can be used for quality control of Wudidan Capsules.

[**KEY WORDS**] HPLC ; Wudidan Capsulese ; Loureirin A ; Determination

欢迎订阅 2011 年《广州中医药大学学报》

《广州中医药大学学报》(ISSN 1007-3213/CN44-145/R) 是一份中医药学术类刊物，先后荣获全国优秀高校自然科学学报及教育部优秀科技期刊、全国中医药优秀期刊等重要奖项，并入选为中国期刊方阵双效期刊。主要栏目有中医基础理论探讨、临床研究、实验研究、中药药理、中药鉴定、中药制剂与工艺、经络与针灸和疑难病案分析等。文章题材新颖，切合临床实际，可读性强，集中报道目前中医药学最新研究进展。

本刊为双月刊，大 16 开本，逢单月 20 日出版。定价：¥8.00 元/期，60.00 元/全年。邮发代号：46 - 275。全国各地邮局均可订阅。脱订者也可直接向编辑部办理邮购。编辑部地址：广州市机场路 12 号（邮编：510405），《广州中医药大学学报》编辑部。联系人：贺小英、袁书慧；电话：(020) 36585268，36585697，36585013；传真：(020) 36585697；

E - mail : gzzyxb@ gzhtcm. edu. cn ; 网址 : http : //gzzyydx. periodicals. net. cn ; http : //rest. chinajournal. net. cn