

高效液相色谱法测定龟鹿二仙膏中甜菜碱含量

★ 王样根 邹燕辉 (江西德上医药研究院有限公司 樟树 331200)

关键词: 高效液相色谱法; 龟鹿二仙膏; 甜菜碱; 含量测定

中图分类号: R 282.5 **文献标识码:** B

龟鹿二仙膏由龟甲、鹿角、党参、枸杞等 4 味中药组成, 具有温肾益精、补气养血的功效, 用于久病肾虚, 腰膝酸软, 精血不足, 遗精阳痿等症。为了更好的控制本品的质量, 对其中所含甜菜碱进行含量测定研究。

1 仪器与试剂

岛津 SPD-20A 紫外检测器, 岛津 LC-20AT 输液泵; TG328 万分之一分析天平; 龟鹿二仙膏, 江西南大博仕制药有限公司提供(批号: 0603030); 甜菜碱, 中国药品生物制品检定所提供(批号: 110894-200503); KH_2PO_4 (分析纯)。

2 实验方法

2.1 色谱条件 色谱柱: Phenomenex C_{18} 柱 (5 μm , 4.6 mm $\times$ 250 mm); 流动相: 50 mmol/L KH_2PO_4 (pH 4.56) 溶液; 流速: 1 ml/min; 检测波长: 192 nm; 进样量: 10 μl ; 柱温: 室温。

2.2 供试品溶液的制备 取本品 20 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 80% 的甲醇溶液 50 ml, 密塞, 精密称定, 超声处理 30 分钟, 取出, 用 80% 的甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 弃去初滤液, 精密吸取续滤液 25 ml, 过阴离子交换树脂柱(强碱 201 $\times$ 7 型), 用水 30 ml 洗脱, 收集洗脱液, 再过阳离子交换树脂柱(强酸 732 型), 用水 30 ml 洗脱, 弃去水洗脱液, 再用 15% 的氨水 40 ml 洗脱, 收集洗脱液, 水浴蒸干, 加流动相使溶解, 定量转移至 1 ml 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。

2.3 对照品溶液的制备 精密称取甜菜碱对照品适量, 加水制成每 1 ml 含 0.3 mg 的溶液, 摇匀即得。

2.4 测定方法 精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μl , 注入液相色谱仪, 测定, 即得。

3 实验结果

3.1 波长的选择 取甜菜碱对照品溶液, 置紫外分光光度计中进行扫描, 扫描范围 190~356 nm, 结果在 192 nm 有一最大吸收峰, 故选择 192 nm 作为检测波长。

3.2 系统适用性试验 按上述色谱条件进行分析, 甜菜碱对照品和制剂中的其它组分均能达到基线分离。理论板数以甜菜碱峰计应达到 2 000。

3.3 空白试验 按单倍量处方除枸杞子的其它药材, 依制法制成阴性样品, 再依供试品溶液制备方法制成阴性样品溶液, 依正文含量测定方法试验, 结果阴性无干扰。

3.4 甜菜碱对照品溶液的线性关系 取甜菜碱对照品分别配制成 104、208、312、416、520 $\mu\text{g/ml}$, 分别精密吸取以上对照品溶液 10 μl , 注入液相色谱仪, 测定, 结果线性回归方程为 $Y = 33\,455X - 171\,222$, $r = 0.999\,4$, 线性范围 (1.04 ~ 5.20 μg)。

3.5 甜菜碱对照品溶液的稳定性试验 精密吸取甜菜碱对照品溶液 (280 $\mu\text{g/ml}$) 10 μl , 每隔 2 小时进样, 连续进样 5 次, 峰面积分别为 9 013 452、8 976 374、8 955 493、9 058 461、9 103 426, 结果稳定性良好, $RSD = 0.67\%$ 。

3.6 甜菜碱对照品溶液精密度试验 精密吸取甜菜碱对照品溶液 (280 $\mu\text{g/ml}$) 10 μl , 连续进样 5 次, 峰面积分别为 8 944 349、8 912 739、8 897 606、9 076 726、9 106 080, 结果精密度良好, $RSD = 1.08\%$ 。

3.7 重现性试验 分别取同一龟鹿二仙膏样品 (批号: 0603030) 5 份, 按正文中含量测定项下方法试验, 测定甜菜碱的含量。样品中甜菜碱含量的相对标准偏差为 0.88%, 表明此法重现性良好。

3.8 加样回收率试验 采用加样回收法。取同一批已知含量的龟鹿二仙膏样品 (批号: 0603030, 含量 158 $\mu\text{g/g}$), 取本品约 10 g 5 份, 分别精密称定, 置具塞锥形瓶中, 分别定量加入甜菜碱对照品溶液 (630 $\mu\text{g/ml}$) 2 ml, 再加入 80% 的甲醇 48 ml, 超声处理 30 分钟, 滤过, 滤液按正文方法制备供试品溶液。测定, 结果平均回收率为 98.8%, 相对标准偏差为 0.96%, 表明此法回收率良好。

3.9 样品含量测定 取本品三批 (0601002、0602002、0603030), 分别按上述方法进行检验, 结果甜菜碱分别为 148、158、155 $\mu\text{g/g}$ 。

4 讨论

本文采用高效液相色谱法测定甜菜碱的含量, 较薄层扫描法测定具有准确可靠、精密度高、重现性好等特点。

(收稿日期: 2007-09-14)