

高效液相色谱法测定加味青娥丸中 补骨脂素、异补骨脂素的含量

□艾路* 马群* (北京中医药大学中药学院 北京 100102)

邱落 张薇 (北京同仁堂研究院 北京 100079)

刘永刚 (北京中医药大学中药学院 北京 100102)

摘要:目的:测定加味青娥丸中补骨脂素、异补骨脂素的含量。方法:色谱柱:Zorbax C₁₈(4.6mm×150mm, 5μm),流动相:乙腈-水(30:70),流速:1.0mL·min⁻¹,检测波长:246nm。结果:补骨脂素、异补骨脂素分别在0.0258~0.2580μg、0.0240~0.2400μg范围内线性良好($r=0.9999$, $n=6$),回收率分别为100.56%、100.74%,RSD分别为0.75%和1.00%($n=6$)。结论:该方法简便、快速、灵敏、准确,可作为加味青娥丸中补骨脂素的含量测定方法。

关键词:加味青娥丸 补骨脂素 异补骨脂素 高效液相色谱法

doi: 10.3969/j.issn.1674-3849.2010.05.026

加味青娥丸^[1]由补骨脂、核桃仁、杜仲等7味药组成,用于肾经虚寒引起的腰腿酸痛,阳痿遗精,小便频数,小腹冷痛等病证。经查阅文献,未发现对加味青娥丸中成分进行质量控制的报道,本文采用高效液相色谱法测定加味青娥丸中补骨脂素、异补骨脂素的含量,以控制制剂质量。

供,含量测定用,批号:110739-200511)。异补骨脂素对照品(中国药品生物制品检定所提供,含量测定用,批号:110738-200511);加味青娥丸由北京同仁堂股份公司制药厂提供(批号:6013930、6013931、6013932),乙腈为色谱纯(天津四友生物医学技术开发公司),纯净水,其余试剂均为分析纯。

一、仪器与试剂

1. 仪器

Waters公司2695高效液相色谱仪,Empower液相色谱工作站,2996检测器

2. 药品试剂

补骨脂素对照品(中国药品生物制品检定所提

二、方法与结果

1. 色谱条件

色谱柱:十八烷基硅烷键合硅胶 Zorbax C₁₈(4.6mm×150mm, 5μm);流动相:乙腈-水(30:70);检测波长:246nm;柱温:35℃;流速:1.0mL·min⁻¹;理论板数按补骨脂素峰计算应不少于3000。

2. 对照品溶液的制备

取补骨脂素、异补骨脂素对照品适量,精密称

收稿日期:2010-01-19

修回日期:2010-02-02

* 联系人:艾路,副研究员,主要研究方向:中药合理应用与毒副作用研究, Tel:010-84738605, E-mail: ai9iu29@163.com; 马群,副教授,主要研究方向:中药质量控制, Tel:010-84738658, E-mail: maqun99@163.com。

定,加甲醇分别制成每 1mL 含补骨脂素、异补骨脂素各 15 μ g 的溶液,摇匀,即得,见图 1~2。

3. 供试品溶液的制备

取加味青娥丸约 1g,剪碎,精密称定,至具塞锥形瓶中,精密加入 70%乙醇 50mL,称定重量,超声处理 30min,放冷,再称定重量,用 70%乙醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,作为供试品溶液,用微孔滤膜(0.45 μ m)滤过,即得。

精密吸取供试品溶液 10 μ L,注入液相色谱仪,测定,外标法计算补骨脂素、异补骨脂素的含量,见图 3。

4. 空白试验

按处方中药味的比例,自配不含补骨脂的群药,按其工艺制成空白制剂,再按供试品溶液制备方法制备并测定,结果空白溶液在补骨脂素、异补骨脂素对照品相同保留时间处未显色谱峰,故认为无干扰,见图 4。

5. 线性关系考察

精密吸取补骨脂素对照品溶液(25.80 μ g $\cdot$ mL⁻¹)1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、10mL,分别置 10mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,分别精密吸取 10 μ L,按上述色谱条件测定峰面积,以峰面积积分值为纵坐标,补骨脂素进样量为横坐标绘制标准曲线并计算得回归方程:Y=7105339x+34786, r=0.9999,结果表明,补骨脂素在 0.0258~0.2580 μ g 范围内线性良好。

精密吸取异补骨脂素对照品溶液(24.00 μ g $\cdot$ mL⁻¹)1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、10mL,分别置 10mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,分别精密吸取 10 μ L,按上述色谱条件测定峰面积,以峰面积积分值为纵坐标,异补骨脂素进样量为横坐标绘制标准曲线并计算得回归方程:Y=7142028x+32576, r=0.9999,结果表明,异补骨脂素在 0.0240~0.2400 μ g 范围内线性良好。

6. 定量限

定量限是指供试品中被测成分能被定量测定的最低量,即信噪比为 10:1 左右时样品浓度。补骨脂素和异补骨脂素的定量限分别为 5.84ng 和 3.60ng。

7. 稳定性试验

精密吸取加味青娥丸同一批号

(6013932) 供试品溶液 10 μ L,每隔一定时间进样一次,观察供试品溶液稳定性,补骨脂素、异补骨脂素的相对标准偏差分别为 1.50%和 1.10%(n=6)。试验结果表明,供试品溶液制备后 24h 内基本稳定。

8. 重复性试验

按上述色谱条件对同一批样品(6013932)6 份,进行测定,求得补骨脂素平均含量为 0.502mg $\cdot$ g⁻¹, RSD=2.23%(n=6)、异补骨脂素平均含量为 0.476mg $\cdot$ g⁻¹, RSD=1.66%(n=6)。

9. 回收率试验

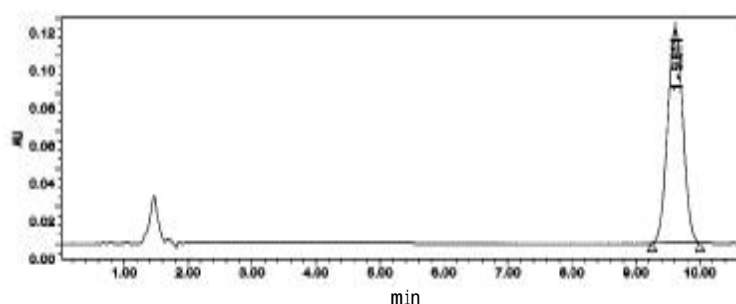


图 1 补骨脂素对照品图

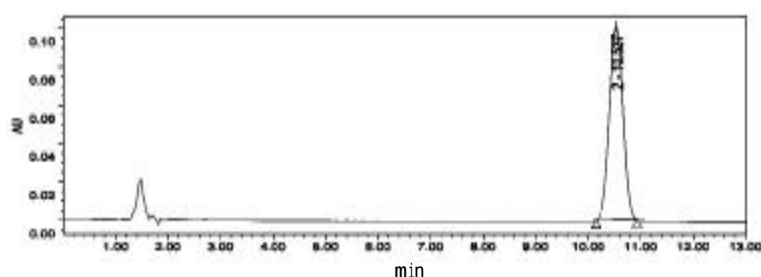


图 2 异补骨脂素对照品图

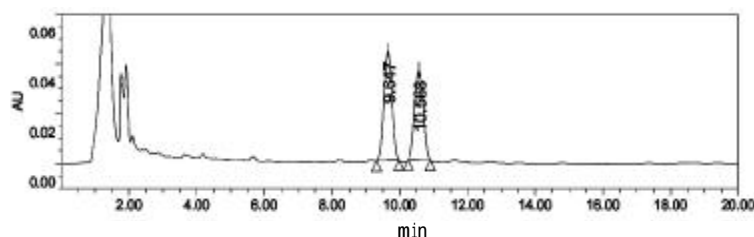


图 3 加味青娥丸样品液相色谱图

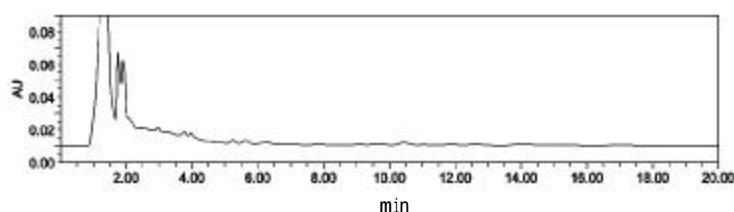


图 4 加味青娥丸空白样品液相色谱图

采用加样回收法,精密称取已知含量的同一批号样品(批号:6013932,补骨脂素含量 $0.502\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 、异补骨脂素含量 $0.476\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)0.5g,分别精密加入补骨脂素 ($0.130\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)、异补骨脂素对照品溶液

表 1 补骨脂素回收率试验

实验次数	称样量(g)	样品中含 量(mg)	测出补骨 脂素总量 (mg)	回收率 (%)	平均回收 率(%)	RSD (%)
1	0.5027	0.2524	0.3825	100.1		
2	0.5101	0.2561	0.3858	99.8		
3	0.5010	0.2515	0.3814	99.9	100.56	0.75
4	0.5003	0.2512	0.3830	101.4		
5	0.5034	0.2527	0.3833	100.4		
6	0.5021	0.2521	0.3843	101.7		

表 2 异补骨脂素回收率试验

实验次数	称样量(g)	样品中含 量(mg)	测出异补 骨脂素总 量(mg)	回收率 (%)	平均回收 率(%)	RSD (%)
1	0.5027	0.2393	0.3834	101.5		
2	0.5101	0.2428	0.3871	101.6		
3	0.5010	0.2385	0.3831	101.8	100.74	1.00
4	0.5003	0.2381	0.3799	99.9		
5	0.5034	0.2396	0.3825	100.6		
6	0.5021	0.2390	0.3797	99.1		

表 2 样品测定结果

批号	补骨脂素、异补骨脂素总量(mg/丸)
6013930	8.26
6013931	8.58
6013932	8.84

($0.142\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)各 1.0mL,按上述条件操作,计算回收率。补骨脂素的平均回收率为 100.56%,RSD=0.75%(n=6),异补骨脂素的平均回收率为 100.74%,RSD=1.00%(n=6)。结果表明,本法具有良好的回收率,见表 1~2。

10. 样品测定结果

取加味青娥丸 3 批样品(每丸重 9g),依上述条件进行测定,测定结果见表 3。

三、讨 论

1. 检测波长的选择

取补骨脂素、异补骨脂素对照品,在 200~400nm 范围内扫描,结果在 246nm 处有最大吸收,故选择 246nm 作为检测波长。

2. 提取条件的选择

参考中国药典^[2],根据补骨脂、异补骨脂素的性质,进行 70%乙醇、95%乙醇、70%甲醇、甲醇作为提取溶剂的比较,同时进行了超声提取和回流两种方法考察,溶积体积考察。实验结果表明:70%乙醇超声提取方法提取补骨脂素、异补骨脂素总量高,溶剂量为 50mL 时补骨脂素、异补骨脂素提取已基本完全。经计算选择样品量 1g,70%乙醇 50mL 超声提取作为提取条件。

参考文献

- 1 中国药典委员会.中华人民共和国卫生部药品标准.中药成方制剂第十一册,1996:58.
- 2 中国药典委员会.中华人民共和国药典一部.北京:化学工业出版社,2005:129.

Determination of Psoralen and Isopsoralen in Jiawei Qing'e Pills by HPLC

Ai Lu¹, Ma Qun¹, Qiu Luo², Zhang Wei², Liu Yonggang¹

(1. Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100102, China;

2. Research institute of Beijing Tongrentang, Beijing 100079, China)

Abstract: This work aimed to establish a method for HPLC determination of psoralen and isopsoralen in Jiawei Qing'e Pills. The condition for HPLC was the Zorbax C18 column (150 mm×4.6 mm, 5 μm, Agilent). The detection wavelength was 246 nm. The mobile phase consisted of acetonitrile-water (30:70). For psoralen, the linear range of psoralen was determined to be 0.0258-0.2580 μg, $r=0.9999$ (n=6) with an average recovery rate of 100.56%(RSD=0.75%); for isopsoralen, the liner range was 0.0240-0.2400 μg, $r=0.9999$ (n=6) with an average recovery rate of 100.74%(RSD=1.00%). This method shows good separating results, accuracy and reproducibility, thus it may be used for the quality control of Jiawei Qing'e Pills.

Keywords: Jiawei Qing'e Pills, Psoralen, Isopsoralen, HPLC

(责任编辑:李沙沙,责任译审:张立巍)