

HPLC 法测定补肾口服液中异补骨脂素的含量

孟召全¹, 陈鸿楠¹, 何希荣^{2*}

(1. 北京中医药大学东方医院, 北京 100078; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 建立了补肾口服液中异补骨脂素的含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法, 色谱柱为 ZORBAX RX-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相采用甲醇-水 (45: 55), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 295 nm, 柱温为 35 °C。结果: 异补骨脂素在 0.16~ 0.80 μg 范围线性关系良好, $r = 0.999 9$, 平均回收率 100.1%, RSD 为 1.79%。结论: 该法分离好, 快速、简便, 重复性好, 可作为该产品的质量控制方法。

[关键词] 补肾口服液; 异补骨脂素; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)12-0022-02

补肾口服液是由补骨脂、蛇床子、肉桂、锁阳、菟丝子、熟地黄、当归、枸杞子等中药组成, 具有壮阳滋阴, 益气健脾, 养血生精功能, 用于阳痿早泄及头晕眼花, 精神疲倦, 失眠健忘, 食欲不振等。为保证药物的安全性, 有效性和可控性, 采用高效液相色谱法测定补骨脂中异补骨脂素的含量, 并进行了方法学研究。为控制该产品的质量提供了依据。

1 仪器与试剂

美国 HP1100 高效液相色谱仪, G1311A 四元泵,

G1313A 自动进样器, G1316A 柱温箱, G1315A 二极管矩阵检测器, HPCHEM 色谱工作站。对照品异补骨脂素(批: 110738-200511 含量测定用) 购自中国药品生物制品检定所。甲醇为色谱纯(天津市四友生物医学技术有限公司), 高纯水。

2 含量测定

2.1 色谱条件 色谱柱: ZORBAX RX-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 295 nm, 柱温 35 °C, 流动相: 水-甲醇 (55: 45)

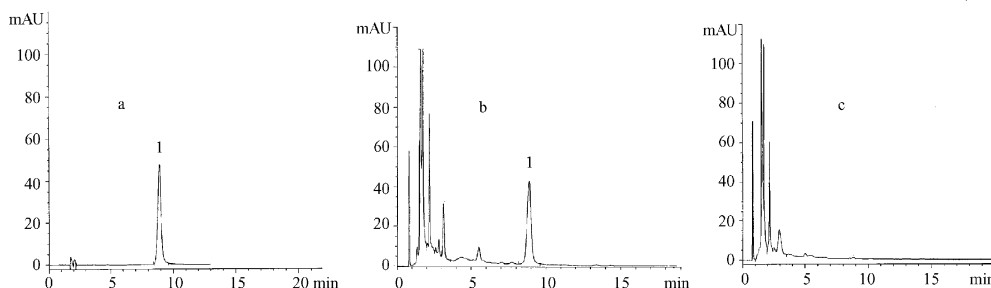


图 1 补肾口服液的高效液相色谱图

a. 对照品溶液; b. 供试品溶液; c. 空白溶液; 1. 异补骨脂素

2.2 标准曲线的制备 取干燥至恒重的异补骨脂素对照品适量, 精密称定, 加乙醇制成每 1 mL 含 0.16 mg 的溶液。精密吸取 1, 2, 3, 4, 5 μL 注入液相色谱仪注入液相色谱仪, 连续进样 2 次, 测定峰面积, 以对照品进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 其回归方程为 $Y = 11.860 +$

$1 979.182X$, $r = 0.999 9$ 。结果表明, 异补骨脂素在 0.16~ 0.80 μg 范围内线性良好。

2.3 对照品溶液的制备 精密称取在 105 °C 干燥至恒重的异补骨脂素对照品适量, 加流动相制成每 1 mL 含 0.10 mg 的溶液。

2.4 供试品溶液的制备 取本品 25 mL, 置分液漏斗中, 加氯仿萃取 4 次, 每次 25 mL, 合并提取液, 蒸干, 残渣加流动相溶解, 并移置 10 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜 (0.5 μm) 滤过, 即得。

[收稿日期] 2008-07-21

[通讯作者] * 何希荣, Tel: (010) 64014411-2842; E-mail: hexirong_001@163.com

2.5 阴性对照溶液的制备 按处方组成,取不含补骨脂的群药,按制备工艺制成不含补骨脂的样品,按供2.3.2项下的方法制成阴性对照溶液,结果其与异补骨脂素色谱所对应位置上没有相应色谱峰,对测定无干扰。

2.6 精密度试验 精密吸取供试品溶液,按上述色谱条件进样5 μL ,重复进样5次,测定峰面积,计算RSD= 0.31%。表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性考察 取供试品分别于0, 1, 2, 4, 6, 24 h测定异补骨脂素峰面积,计算其RSD= 0.75%,表明供试品溶液在24 h内稳定。

2.8 重复性试验 取同一批样品5份,按2.4项下方法制备的供试品溶液,按上述色谱条件测定含量,结果异补骨脂素的平均含量为0.22 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, RSD = 2.0%。

2.9 加样回收率试验 取已知含量的样品5份,每份精密量取10 mL,分别精密加入异补骨脂素对照品适量,按上述供试品溶液的制备方法制备,测定,计算回收率,结果平均回收率为100.11%,相对标准偏差为1.8%。见表1。

表1 加样回收率试验

编号	样品中异补骨脂素量(mg)	加入异补骨脂素量(mg)	检出异补骨脂素量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1			0.500	99.17		
2			0.505	101.25		
3	0.24	0.262	0.497	97.92	100.1	1.79
4			0.505	99.17		
5			0.508	102.50		

2.10 样品测定 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各5 μL ,注入液相色谱仪,按照外标一点法计算3批样品异补骨脂素含量为0.24, 0.25, 0.23($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)。

3 讨论

本文采用高效液相色谱测定补肾口服液中异补骨脂素的含量,曾使用过的流动相有甲醇-水(40:60),乙腈-水(30:70)等均未达到良好分离效果,最后选定色谱条件为甲醇-水(45:55)分离效果好,而与其它成分无干扰。通过对甲醇、乙酸乙酯、氯仿不同溶剂及萃取、回流、超声不同提取方式进行比较,结果表明氯仿萃取具有快速、简便的优点,重复性好,故采用氯仿萃取作为提取方法。