

高效液相色谱法测定宫炎平片中补骨脂素的含量

宋粉云*, 毋福海, 傅 军, 李庆全
(广东药学院, 广东 广州 510224)

[摘要] 目的: 测定宫炎平片中补骨脂素的含量。方法: 采用反相高效液相色谱法, Diamonsil™-C₁₈ 柱, 甲醇-水(50: 50) 为流动相, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 246 nm, 柱温为室温。结果: 补骨脂素平均回收率为 99.9%, 方法精密度(RSD) 为 2.0% (n=6)。结论: 该法可用于宫炎平片中补骨脂素的含量测定。

[关键词] 宫炎平片; 补骨脂素; 高效液相色谱法; 含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)06-0012-03

Determination of Psoralen in Gongyanping Tablets by RP-HPLC

SONG Fen-yun, WU Fu-hai, FU Jun, LI Qing-quan
(Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510224, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the content of psoralen in Gongyanping Tablet. **Methods:** A RP-HPLC method was developed. The chromatographic column was Diamonsil-C₁₈. The mobile phase was methanol-water(50: 50). The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, and the detection wavelength was 246 nm. **Results:** The average recovery for psoralen was 99.9%. precision of the method was 2.0% (RSD, n = 6). **Conclusion:** The method can be used for quantitative determination of psoralen in Gongyanping tablets.

[Key words] Gongyanping Tablet; psoralen; RP-HPLC; Assay

宫炎平片是由当归、五指毛桃、地稔、两面针、穿破石经提取制成的异型薄膜衣片, 具有清热利湿, 祛瘀止痛, 收敛止带的功效。临床用于治疗急、慢性盆腔炎等症。该产品现行标准^[1]只收录了常规定性反应。为进一步评价宫炎平片的质量, 本文建立了宫炎平片中补骨脂素含量测定的反相高效液相色谱法, 该法具有分离效果好、灵敏、准确等优点, 可用于该产品的质量的控制。

1 仪器和试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪(安捷伦公司), 二元泵, 可变波长检测器, 化学工作站。DL-360 超声波清洗器(工作频率 4.5 KHz ±5%; 输出功率 240W)。

补骨脂素对照品(中国药品生物制品检定所,

110739-200309), 宫炎平片(广东罗浮山药业有限公司), 甲醇为色谱纯, 水为双蒸水。

2 实验部分

2.1 溶液制备

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取补骨脂素对照品 17.5 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品贮备液(补骨脂素浓度为 350 μg·mL⁻¹)。

2.1.2 供试品溶液的制备 精密称取宫炎平片样品约 3 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加甲醇 25 mL, 密塞, 称重, 超声提取 40 min, 放冷, 加甲醇补足减失的重量, 过滤, 弃去初滤液, 续滤液 0.45 μm 滤膜过滤, 作为供试品溶液。

2.1.3 阴性对照液的制备 取处方组成中除五指毛桃外的其余成分制成不含五指毛桃的阴性样品, 按“2.1.2”项下的制备方法处理得阴性对照液。

2.2 色谱条件及系统适应性试验 色谱柱为:

[收稿日期] 2005-08-12

[通讯作者] 宋粉云, Tel: 013660528126; E-mail: fuhaiwu@163.com。

Diamonsil™-C₁₈柱(250mm × 4.6mm, 5μm, 迪马公司), 流动相为甲醇-水(50:50), 流速为 1.0mL·min⁻¹, 检测波长 246nm, 柱温为室温。分别取对照品溶液(补骨脂素浓度为 24.5μg·mL⁻¹)、供试品溶液和阴性对照液 10μL 注入色谱仪, 理论板数以补骨脂素计算应不低于 10000; 补骨脂素的拖尾因子为 1.07, 保留时间约为 14.9min, 补骨脂素与其它组分可基线分离; 其他药味不干扰补骨脂素测定(图 1)。

份, 按供试品溶液制备法提取、测定, 结果补骨脂素平均含量为 0.163 mg·g⁻¹, RSD 为 2.0%。表明分析方法重复性良好。

2.3.5 加样回收试验 精密称取同一批号样品(0503171)共 6 份, 加入相应量的补骨脂素对照品, 按供试品溶液的制备方法处理并测定, 计算回收率, 结果见表 1。补骨脂素平均回收率为 99.9%, RSD=2.6%。结果表明本方法准确可靠。

表 1 回收率试验结果(n=6)

样品重(g)	补骨脂素量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)
1.5006	0.245	0.175	0.423	101.7
1.5220	0.248	0.175	0.418	97.1
1.4999	0.244	0.350	0.585	97.4
1.5023	0.245	0.350	0.589	98.3
1.5118	0.246	0.525	0.783	102.3
1.5079	0.246	0.525	0.786	102.8
平均回收率: 99.9%			RSD= 2.6%	

2.4 样品测定 取宫炎平片 3 批, 照 2.1.2 方法制备供试品溶液, 分别精密吸取对照品溶液(21μg·mL⁻¹)与供试品溶液各 10μL, 注入液相色谱仪, 测定, 计算样品中补骨脂素的含量, 结果见表 2。

表 2 样品测定结果(n=3)

批号	补骨脂素含量(mg/片)	RSD(%)
0503171	0.043	2.0
0410121	0.049	2.9
0408011	0.051	1.4

3 讨论

补骨脂素为五指毛桃的有效成分之一, 五指毛桃中补骨脂素的含量测定文献报导有薄层色谱法^[2]和高效液相色谱法^[3,4]。本文建立了宫炎平片中补骨脂素含量测定的高效液相色谱法, 方法简便、准确、可靠, 可用于宫炎平片的质量控制。

本文分别以乙醇、甲醇为溶剂, 进行索氏提取和超声提取的对比研究, 结果表明甲醇提取比乙醇提取效率高, 超声提取比索氏提取效率高。并以甲醇为溶剂提取, 考察了超声提取 20 30 40 50 60min 对提取率的影响, 结果表明, 超声提取 40min 含量达稳定, 时间增加, 含量不会增加。表明 40min 已提取完全, 因此选择甲醇为溶剂, 超声提取 40min。

本文曾尝试以甲醇-冰醋酸^[5]为流动相同时测定补骨脂素和阿魏酸, 但分离不好, 且峰形不对称。经反复实验探索, 采用甲醇-水^[6](50:50)为流动相后, 方得满意结果。

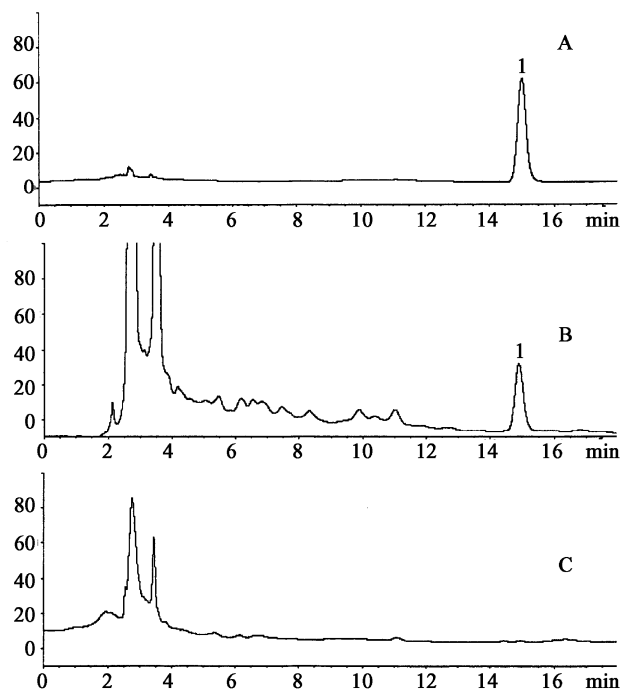


图 1 补骨脂素对照品、样品及阴性样品的高效液相色谱图
1. 补骨脂素; A. 对照品; B. 样品; C. 阴性

2.3 方法学考察

2.3.1 标准曲线制备 分别吸取一定量的补骨脂素对照品贮备液, 加甲醇稀释成补骨脂素浓度为 7、10.5、14、21、24.5、28、35μg·mL⁻¹的溶液。依次进样 10μL, 每个浓度测定 3 次以上。以峰面积(A)对对照品溶液浓度(C)进行回归, 得补骨脂素回归方程 A = 74.56C + 166.16, 相关系数 r = 0.9995。表明补骨脂素在 7~35μg·mL⁻¹之间与峰面积线性关系良好。

2.3.2 精密度试验 取浓度为 21μg·mL⁻¹的补骨脂素对照品溶液 10μL 连续测定 5 次, 其峰面积的平均值为 1718.5, RSD 为 1.0%, 表明精密度良好。

2.3.3 稳定性试验 取供试品溶液(0503171)在 0, 1, 2, 4, 6, 8h 分别进样 10μL, 记录峰面积, 结果补骨脂素峰面积的平均值为 1722.6, RSD=2.7%, 表明供试品溶液在 8h 内稳定。

2.3.4 重复性试验 取同一批号(0503171)样品 6

[参考文献]

- [1] 中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂(第十七册)[S]. 1998. 181(WS₃-B-3274-98).
- [2] 陈勇,甄汉荣,陈美燕. 五指毛桃中补骨脂素的含量测定[J]. 中药材, 2002, 25(4): 265-266.
- [3] 刘春玲,徐鸿华,许小峰,等. 高效液相色谱法测定五指毛桃中补骨脂素的含量[J]. 中药材, 2004, 27(8): 582-583.
- [4] 周嵩煜,韦家福. HPLC法测定五指毛桃中补骨脂素的含量[J]. 中南药学, 2004, 2(6): 341-342.
- [5] 方子季,朱秀美,孙宪悌. 高效液相色谱法测定接骨胶囊中阿魏酸、补骨脂素及异补骨脂素的含量[J]. 中国药学杂志, 2001, 36(6): 410-411.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部,北京: 化学工业出版社, 2005. 129.