

HPLC 测定驱白白热斯酊中补骨脂素和异补骨脂素的含量

范晓雯, 马清河, 李海齐, 戴秀勇*

(新疆华圣元医药科技有限公司, 乌鲁木齐 830011)

[摘要] 目的: 建立驱白白热斯酊中补骨脂素和异补骨脂素的含量测定方法, 以控制该产品的质量。方法: 采用 HPLC 法, Scienhome kromasil ODS-1 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 柱温 40 °C, 流动相甲醇-水(55:45), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 246 nm。结果: 补骨脂素和异补骨脂素分别在 6.12 ~ 18.36 mg·L⁻¹, 在 6 ~ 18 mg·L⁻¹ 线性关系良好, 相关系数分别为 $r_{\text{补骨脂素}} = 0.999 0$, $r_{\text{异补骨脂素}} = 0.999 1$ 。两组份的回收率分别为补骨脂素 101.57%, RSD 1.6%; 异补骨脂素 100.39%, RSD 1.5%。结论: 该法可同时测定补骨脂素和异补骨脂素, 方法简便易行、准确可靠, 可用于驱白白热斯酊的质量控制。

[关键词] 补骨脂素; 异补骨脂素; 驱白白热斯酊; HPLC

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)23-0114-03

Determination of Psoralen and Isopsoralen in Qubaibairesi Tincture by RP-HPLC

FAN Xiao-wen, MA Qing-he, LI Hai-qi, DAI Xiu-yong*

(Xinjiang Huashengyuan Medicine Technology Co Ltd, Uruoqi 830011, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a reversed-phase HPLC method for the determination of psoralen and isopsoralen in Qubaibairesi tincture. **Method:** The method of RP-HPLC was carried out with Scienhome kromasil ODS-1 column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); the flow rate of the mobile phase of methanol-water (55:45) was 1.0 mL·min⁻¹; the column temperature was maintained at 40 °C and the detection wavelength was set at 246 nm. **Result:** The linear ranges of psoralen and isopsoralen were 6.12-18.36 mg·L⁻¹ ($r = 0.999 0$) and 6-18 mg·L⁻¹ ($r =$

[收稿日期] 20111227(006)

[第一作者] 范晓雯, 学士, 主管中药师, 从事中药新药研发, Tel: 13999227728, E-mail: jyan712@163.com

[通讯作者] *戴秀勇, 学士, 制药工程高级工程师, 从事新药开发, Tel: 13565836898, E-mail: dxy315@yahoo.com.cn

[参考文献]

- [1] 苏青华, 张水利, 韩召会. 《本草纲目拾遗》毛叶仙桥及猫舌仙桥考释[J]. 浙江中医药大学学报, 2012, 36(1): 74.
- [2] 胡万春, 杨念云, 邓涛. 梓木草全草的化学成分[J]. 中南药学, 2008, 6(4): 437.
- [3] 张现涛, 殷志琦, 叶文才, 等. 梓木草的化学成分[J]. 中国天然药物, 2005, 3(6): 357.
- [4] 张芳芳, 李伟东, 杨光明, 等. HPLC 法测定麸炒山药饮片中原尿囊素的含量[J]. 南京中医药大学学报, 2010, 26(2): 146.
- [5] 夏曙辉, 闫冰, 郁靓, 等. HPLC 法测定尿囊素乳膏的含量[J]. 中国药师, 2007, 10(3): 265.
- [6] 张莉, 刘继春, 杜亮, 等. 梓木草药酒配合抗癆药物治

- 疗颈部淋巴结核[J]. 河北医学, 2001, 7(1): 729.
- [7] 夏公旭. 梓木草酒治疗淋巴结核 60 例疗效观察[J]. 新中医, 1997, 29(1): 17.
- [8] 黄玉仙, 易骏, 吴岩斌, 等. 不同山药种质资源的尿囊素含量比较研究[J]. 福建中医药, 2011, 42(2): 50.
- [9] 刘玉强, 甄毕贤, 才谦. 不同地区白术药材及饮片中原尿囊素 II 的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(4): 120.
- [10] 李伟东, 刘雪东, 杨光明, 等. 山药片质量标准研究[J]. 南京中医药大学学报, 2012, 26(6): 462.
- [11] 刘瑞, 张振秋, 李伟铭, 等. 连翘不同产地与不同炮制品中 4 种成分的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(14): 83.

[责任编辑 顾雪竹]

0.999 1) respectively. The recoveries were 101.57% (psoralen) and 100.39% (isopsoralen), and their RSDs were 1.6% (psoralen) and 1.5% (isopsoralen). **Conclusion:** The method is simple, accurate and can be used to control quality of Qubaibairesi tincture.

[**Key words**] psoralen; isopsoralen; Qubaibairesi tincture; HPLC

驱白白热斯酊为《中华人民共和国卫生部药品标准(维吾尔药分册)》所载品种^[1],由补骨脂、新疆酸李、无花果叶、白芥子和当归5味药材组成,能驱散未成熟黏液质,疏通血脉阻滞,临床上用于白癜风的治疗,具有疗效可靠、方法简便、价格低廉、无毒副作用等优点。原标准未对制剂进行含量控制,为了更好地控制该制剂的质量,本文采用高效液相色谱法同时测定补骨脂素和异补骨脂素的含量。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(美国 Laballiance),紫外分光光度仪(上海精密仪器有限公司),电子天平(上海精密仪器有限公司),补骨脂素(中国药品生物制品检验所,110739-200613,供含量测定用),异补骨脂素(中国药品生物制品检验所,批号 0780-9704,供含量测定用),驱白白热斯酊(批号 071201,071202,071203)和阴性制剂均由新疆华世丹药物研究有限责任公司提供;甲醇(色谱纯),其他试剂(分析纯)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,流动相甲醇-水(55:45),流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,柱温 $40 \text{ }^\circ\text{C}$,检测波长 246 nm,理论板数按补骨脂素峰计算不低于 3 000。

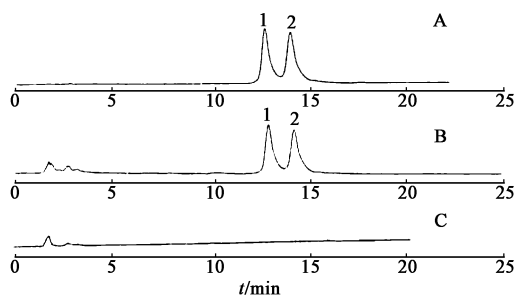
2.2 对照品溶液的制备 精密称取补骨脂素对照品、异补骨脂素对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 各含 $20 \text{ } \mu\text{g}$ 的混合溶液,即得。

2.3 供试品溶液制备 取本品,精密量取 1.0 mL 置 50 mL 量瓶中,用 75% 乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,用微孔滤膜($0.45 \text{ } \mu\text{m}$)滤过,取滤液,即得。

2.4 阴性样品溶液制备 取缺补骨脂的阴性制剂,按供试品溶液制备项下的方法制成阴性对照溶液。

2.5 专属性考察 精密量取对照品溶液、供试品溶液以及阴性对照品溶液各 $5 \text{ } \mu\text{L}$,分别进样,记录色谱图。结果在供试品色谱图中与对照品色谱峰相应位置上有相同保留时间的色谱峰,而阴性样品溶液在此保留时间无峰干扰(图 1)。

2.6 线性关系考察 取补骨脂素和异补骨脂素对照品各 5.0 mg,精密称定,置 5 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制成每 1 mL 中含补骨脂素 1.02 mg、异补骨脂素 1 mg 的混合对照品溶液,精



A. 对照品; B. 样品; C. 阴性; 1. 补骨脂素; 2. 异补骨脂素

图 1 专属性考察 HPLC

密度取上述对照品溶液 1.0 mL 于 10 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制成每 1 mL 中含补骨脂素 $102 \text{ } \mu\text{g}$ 、异补骨脂素 $100 \text{ } \mu\text{g}$ 的混合对照品溶液,作为储备液。分别精密量取 0.6, 1.0, 1.2, 1.4, 1.8 mL 置 10 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,分别精密吸取上述对照品溶液各 $5 \text{ } \mu\text{L}$,依次注入液相色谱仪中,按上述色谱条件测定,以补骨脂素和异补骨脂素浓度为横坐标,相应的峰面积值为纵坐标,计算,得线性回归方程。补骨脂素为 $A = 15346C + 55.8$ ($r = 0.9990$); 异补骨脂素为 $A = 16119C - 11997$ ($r = 0.9991$)。

结果表明,补骨脂素在 $6.12 \sim 18.36 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,异补骨脂素在 $6 \sim 18 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,线性关系良好。

2.7 精密度试验 取供试品溶液,连续进样 6 次,进样量相同,按上述色谱条件测定吸收峰面积值,峰面积值基本稳定,补骨脂素和异补骨脂素 RSD 分别为 1.9%, 0.8%,表明精密度良好。

2.8 稳定性试验 取供试品溶液,分别于 0, 2, 4, 6, 8 h 进样,按上述色谱条件测定吸收峰面积值,峰面积值基本稳定,补骨脂素和异补骨脂素 RSD 分别为 0.6%, 2.0%,表明在 8 h 内,供试品溶液稳定。

2.9 重复性试验 取供试品溶液,于同一天内和不同天分别平行测定 5 次,按上述色谱条件测定吸收峰面积值,峰面积值基本稳定,补骨脂素日内差和日间差的 RSD 分别为 0.8%, 1.6%,异补骨脂素日内差和日间差的 RSD 分别为 1.0%, 1.5%,表明重复性较好。

2.10 准确度试验 精密量取已知含量样品 2.5

mL 置 250 mL 量瓶中,再精密加入一定量的对照品,用 75% 乙醇溶液稀释至刻度,摇匀,使其浓度分别达到含量限度的 100%,按上述色谱条件测定,并计算回收率,补骨脂素平均回收率为 101.57%,RSD 1.6%,异补骨脂素平均回收率为 100.39%,RSD 1.5%,见表 1,2。

表 1 补骨脂素加样回收率考察(n=6)

加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1.70	3.38	100.00		
1.70	3.44	103.53		
1.70	3.41	101.76		
1.70	3.38	100.00	100.57	1.6
1.70	3.39	100.59		
1.70	3.44	103.53		

注:样品中含量均为 1.53 mg。

表 2 异补骨脂素加样回收率考察(n=6)

加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1.72	3.23	98.84		
1.72	3.27	101.16		
1.72	3.29	102.34		
1.72	3.27	101.16	100.39	1.5
1.72	3.26	100.58		
1.72	3.22	98.26		

注:样品中含量均为 1.53 mg。

2.11 样品测定 对驱白白热斯酞(批号 071201, 071202,071203)进行含量测定,见表 3。

表 3 中试成品含量测定 mg·L⁻¹

批号	补骨脂素	异补骨脂素	总量
20071201	648	624	1 272
20071202	653	623	1 276
20071203	632	607	1 239

3 讨论

关于补骨脂素和异补骨脂素的 HPLC 测定方法文献较多^[2-15],但驱白白热斯酞中补骨脂素和异补骨脂素的 HPLC 测定方法未见报道。原标准未收载含量测定方法,采用本文的方法具有简便、快速、重复性好的特点,对原标准进行了很大的提高,可作为制剂的定量分析方法。流动相进行了大量的筛选,采用甲醇-水(55:45)为流动相,保证分离度的同时又能使操作时间缩短,因此采用此流动相。

[参考文献]

[1] 中华人民共和国卫生部药品标准(维吾尔药分册) [S]:WS3-BW-0145-98.

[2] 席海为,马强,李强,等. HPLC 同时测定都梁滴丸中的阿魏酸、5-甲氧基补骨脂素、欧前胡素、异欧前胡素[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(16):81.

[3] 宋剑锋,张志根,张成川. RP-HPLC 法测定男宝胶囊中补骨脂素和异补骨脂素含量[J]. 海峡药学,2011,23(8):73.

[4] 杨立志,姜雪敏,李延雪,等. HPLC 法测定肠胃宁片中补骨脂素、异补骨脂素的含量[J]. 中国药事,2011,25(10):1028.

[5] 刘俊娥,刘俊红,赵铁彦. 高效液相色谱法测定健脾益肾颗粒中补骨脂素和异补骨脂素的含量[J]. 中国医药导报,2011,8(34):70.

[6] 张萍,陈光. HPLC 法测定固本咳喘胶囊和补骨脂中补骨脂素和异补骨脂素的含量[J]. 武警医学院学报,2011,20(10):792.

[7] 张广利. RP-HPLC 法测定温胃舒泡腾颗粒中补骨脂素和异补骨脂素的含量[J]. 安徽医药,2010,14(11):1288.

[8] 覃建明,莫文电,谭忠谋. RP-HPLC 法测定老年咳喘片中补骨脂素和异补骨脂素的含量[J]. 世界中医药,2010,5(3):221.

[9] 孟召全,陈鸿楠,何希荣. HPLC 法测定补肾口服液中异补骨脂素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(12):22.

[10] 周黎明,赵晓霞,哈莉莉,等. RP-HPLC 法测定滋补参茸丸中补骨脂素和异补骨脂素的含量[J]. 中医药信息,2009,26(1):66.

[11] 高岚,邹中旺. HPLC 法测定骨康片中补骨脂素和异补骨脂素的含量[J]. 现代中药研究与实践,2008,22(2):45.

[12] 宋粉云,毋福海,傅军,等. 高效液相色谱法测定宫炎平片中补骨脂素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2006,12(6):12.

[13] 黄月纯,樊粤光,唐洪梅,等. HPLC 法测定关节康片中补骨脂素和异补骨脂素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2006,12(3):20.

[14] 向阳,张雪琼,黄敏,等. 高效液相法测定驱白白布期中补骨脂素和异补骨脂素的含量[J]. 中国现代应用药学杂志,2006,23(1):60.

[15] 王栋,胡寿荣,陈伟康. 腰疼丸中补骨脂素和异补骨脂素的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2004,10(1):16.

[责任编辑 顾雪竹]