

# 补骨脂微乳液中补骨脂素与异补骨脂素的含量测定\*

张婷, 龚志成, 唐芬芬

(中南大学湘雅医院药剂科, 长沙 410008)

**摘要** 目的 建立高效液相色谱法测定补骨脂微乳液中补骨脂素和异补骨脂素的含量。方法 采用 Kromasil C<sub>18</sub> 柱, 以甲醇-0.6% 醋酸溶液(50:50)为流动相, 检测波长 246 nm。结果 补骨脂素在 4.24~50.88 μg·mL<sup>-1</sup> 浓度范围内呈良好的线性关系, 平均回收率为 99.3% (RSD=1.51%); 异补骨脂素在 4.48~53.76 μg·mL<sup>-1</sup> 浓度范围内呈良好的线性关系, 平均回收率为 98.6% (RSD=1.65%)。结论 该方法简便可行, 重复性好, 可用于补骨脂微乳液中补骨脂素和异补骨脂素的含量测定。

**关键词** 补骨脂素; 异补骨脂素; 微乳液; 色谱法; 高效液相

中图分类号 R286; R927.2

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2012)12-1619-03

## Determination of Psoralen and Isopsoralen in Fructus Psoraleae Microemulsion by HPLC

ZHANG Ting, GONG Zhi-cheng, TANG Fen-fen (Department of Pharmacy, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China)

**ABSTRACT Objective** To establish a high performance liquid chromatography method for the determination of psoralen and isopsoralen in fructus psoraleae microemulsion. **Methods** The assay was performed on a Kromasil C<sub>18</sub> column using methanol-0.6% acetic acid (50:50) as mobile phase and the detection wavelength was 246 nm. **Results** The liner calibration curve of psoralen was obtained in a range of 4.24-50.88 μg·mL<sup>-1</sup> with an average recovery of 99.3% (RSD=1.51%). The liner calibration curve of isopsoralen was obtained in the range of 4.48-53.76 μg·mL<sup>-1</sup> with an average recovery of 98.6% (RSD=1.65%). **Conclusion** The method is simple and reproducible. It can be used for the determination of psoralen and isopsoralen in fructus psoraleae microemulsion.

**KEY WORDS** Psoralen; Isopsoralen; Microemulsion; High performance liquid chromatography

补骨脂是豆科植物补骨脂(*Psoralea corylifolia* L.)的果实, 中医认为补骨脂有补肾助阳、纳气止泻之功效。补骨脂素和异补骨脂素是其主要有效成分。

微乳是由表面活性剂、助表面活性剂、油相和水相按适当比例混合形成的, 具有无色透明、各向同性、低黏度的热力学稳定系统。在药学领域中, 微乳主要作为药物载体应用, 能增加难溶性药物溶解度, 提高药物生物利用度, 增加药物稳定性, 降低不良反应<sup>[1-4]</sup>。利用微乳分散相粒径小、比表面积大等特性, 有研究<sup>[5-7]</sup>将其用作提取溶媒提取药材中有效成分。微乳对补骨脂中的香豆素类化合物有较好的增溶效果, 笔者建立了补骨脂微乳液中补骨脂素和异补骨脂素的高效液相色谱(HPLC)测定方法, 为微乳在中药领域的应用研究提供参考。

## 1 仪器与试剂

**1.1 仪器** Agilent 1200 高效液相色谱仪(安捷伦公司), Kromasil C<sub>18</sub> 柱(天津市琛航科技仪器有限公司), AG285 电子分析天平(梅特勒-托利多公司)。

**1.2 试剂** 补骨脂素对照品(批号:110789-200401, 中国食品药品检定研究院), 异补骨脂素对照品(批号:110123-200501, 中国食品药品检定研究院), 补骨脂药材(产地四川)购于老百姓大药房, 经中南大学湘雅医院曾嵘主任药师鉴定为豆科植物补骨脂(*Psoralea corylifolia* L.)的干燥成熟果实, 补骨脂微乳液(自制), 甲醇为色谱纯, 水为纯化水, 其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 色谱柱: Kromasil C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm×200 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.6% 醋酸溶液(50:50); 检测波长: 246 nm; 流速: 1 mL·min<sup>-1</sup>; 柱温: 室温; 进样量: 10 μL。在此条件下, 补骨脂素和异补骨脂素得到较好分离, 理论板数按补骨脂素和异补骨脂素计算均不低于 4 000。

**2.2 溶液的制备** 对照品贮备液: 精密称取补骨脂素对照品和异补骨脂素对照品各适量, 用甲醇溶解制成每毫升约含 1 mg 的溶液, 作为对照品贮备液。

对照品溶液: 精密量取对照品贮备液适量, 用甲醇

收稿日期 2012-06-04 修回日期 2012-07-10

基金项目 \* 湖南省中医药科研计划项目(201163)

**作者简介** 张婷(1974-), 女, 湖南辰溪人, 主管药师, 硕士, 研究方向: 药物新制剂与质量控制。电话: 0731-84327460, E-mail: laozhang\_fresh@yahoo.com.cn。

**通讯作者** 龚志成(1963-), 男, 湖南浏阳人, 主任药师, 博士, 研究方向: 药事管理与临床药学。电话: 0731-84327331, E-mail: gongzhicheng2011@gmail.com。

稀释制成每毫升约含 10  $\mu\text{g}$  的溶液,作为对照品溶液。

**空白溶液:**取适量微乳辅料(油酸乙酯、聚山梨酯 80、聚乙二醇 400),加水搅拌混合形成澄清、透明、均一的溶液,即得空白微乳液。精密量取空白微乳液 1 mL,置 25 mL 量瓶,用甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

**供试品溶液:**称取补骨脂药材 10 g,加入配制好的空白微乳液 100 mL,振摇使之混匀,室温浸渍 7 d,过滤,弃去药渣,即得补骨脂微乳液。精密量取微乳液 1 mL,置 25 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

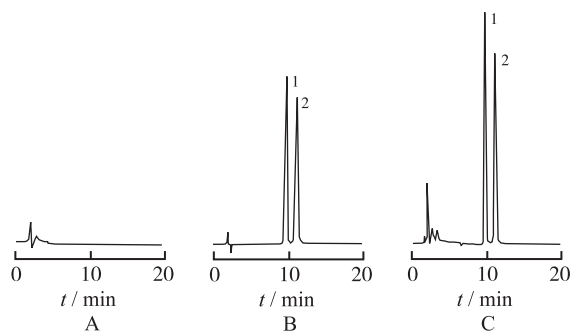


图 1 3 种溶液的 HPLC 色谱图

A. 空白溶液;B. 对照品溶液;C. 供试品溶液;1. 补骨脂素;  
2. 异补骨脂素

Fig. 1 HPLC chromatograms of 3 kinds of solutions

A. blank sample solution; B. reference substance solution; C. sample solution; 1. psoralen; 2. isopsoralen

**2.3 线性关系考察** 精密量取对照品贮备液适量,用甲醇稀释成一系列浓度的溶液,按上述色谱条件进行测定,以组分峰面积( $A$ )对其浓度( $C$ )进行线性回归,得补骨脂素回归方程: $A = 130.26C - 5.0724$  ( $r = 0.9999$ ),线性范围 4.24 ~ 50.88  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ;异补骨脂素回归方程: $A = 119.41C - 23.812$  ( $r = 0.9999$ ),线性范围 4.48 ~ 53.76  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。结果表明,在线性范围内,各组分峰面积与其浓度呈良好的线性关系。

**2.4 精密度实验** 取对照品溶液,重复进样 6 次,以各组分峰面积,计算补骨脂素和异补骨脂素的 RSD 分别为 0.55%, 0.62%。

**2.5 重复性实验** 取同一补骨脂微乳液,按“2.2”项平行制备 6 份供试品溶液,在上述色谱条件下分析,以各组分峰面积,计算补骨脂素和异补骨脂素的 RSD 分别为 0.92%, 1.02%。

**2.6 稳定性实验** 取同一供试品溶液,重复进样 6 次,每次间隔 2 h,以各组分峰面积,计算补骨脂素和异补骨脂素的 RSD 分别为 0.60%, 0.99%, 供试品溶液

在 10 h 内稳定。

**2.7 加样回收率实验** 精密量取已知含量的微乳液 1 mL 和对照品贮备液 0.5 mL,置 25 mL 量瓶(共 6 份),用甲醇稀释至刻度,摇匀,取 10  $\mu\text{L}$  进样分析,测得补骨脂素和异补骨脂素的平均回收率分别为 99.3%, 98.6%, RSD 分别为 1.51%, 1.65%。

**2.8 样品含量测定** 取不同批次(批号:1203211, 1203212, 1203213, 1203214, 1203215, 1203216)的微乳液,按“2.2”项制备供试品溶液,同时取对照品溶液,依法测定补骨脂素和异补骨脂素的含量,结果补骨脂素含量分别为 0.3828, 0.4274, 0.4252, 0.4369, 0.4729, 0.5221  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ;异补骨脂素的含量分别为 0.3803, 0.4119, 0.4084, 0.4256, 0.4397, 0.4657  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

### 3 讨论

补骨脂素和异补骨脂素是补骨脂主要有效成分,理化性质也相似。在流动相选择过程中,考察了甲醇-水、乙腈-水、甲醇-磷酸溶液、甲醇-醋酸溶液等不同的流动相<sup>[8-12]</sup>,结果发现甲醇-0.6% 醋酸溶液(50:50)能将补骨脂素和异补骨脂素较好地分离,并且色谱峰形良好、保留时间适宜。

供试品溶液制备过程中,采用了甲醇为破乳剂,微乳液加入 25 倍的甲醇,所得供试品溶液澄清透明,可直接进样测定,方法简单实用。

本文建立的方法精密度高、重复性好、简单,微乳辅料对样品测定无干扰,可用于补骨脂微乳液中补骨脂素和异补骨脂素的含量测定。

#### 参考文献

- [1] 吴广通,张夏华,李凤前.改善中药挥发油稳定性的制剂学研究进展[J].药学服务与研究,2008,8(3):197-200.
- [2] 吕娟丽,李彦,沈丹,等.微乳促进药物口服吸收的机制及应用概述[J].中国药师,2008,11(5):575-578.
- [3] 刘亭,蒋曙光,周建平.微乳黏膜给药系统的应用与研究进展[J].药学与临床研究,2009,17(1):42-46.
- [4] 吕娟丽,沈丹,刘洋.微乳对难溶性药物的增溶作用和临床应用[J].武警医学院学报,2008,17(3):241-243.
- [5] 杨华,邓茂,易红. O/W 型微乳用于提取中药丹参的实验研究[J].中国中药杂志,2008,33(22):2617-2622.
- [6] 卢瑞芯,卢文彪.微乳法提取番石榴叶中槲皮素的研究[J].中药材,2009,32(4):608-610.
- [7] 宋强,杜红,冯前进,等.中药微乳提取技术的初步实验研究[J].世界中西医结合杂志,2007,2(7):390-392.
- [8] 卢彦芳,安静,蒋晔.微波萃取快速分析补骨脂中补骨脂素和异补骨脂素[J].中国中药杂志,2011,36(9):1158-1161.

- [9] 刘毅,陈莉.无花果叶炮制前后补骨脂素含量比较[J].医药导报,2012,31(5):660-662.
- [10] 侯玉华,郑敏,丛晓东,等.RP-HPLC 法测定复方白斑酊中 3 组分的含量[J].中成药,2010,32(12):2104-2106.
- [11] 冯超,蔡亚玲,阮金兰.反相高效液相色谱法测定益宫宁血胶囊中补骨脂素与异补骨脂素的含量[J].医药导报,2007,26(12):1497-1499.
- [12] 叶英响.HPLC 测定癸闭舒片中补骨脂素的含量[J].中国中药杂志,2010,35(21):2850-2851.
- DOI 10.3870/yydb.2012.12.030

## 高效液相色谱法测定门冬氨酸鸟氨酸注射液的含量

王璐璐,郑稳生,陈少华,张宇佳,相莉

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所药物传输技术及新型制剂北京市重点实验室,100050)

**摘要** 目的 建立测定门冬氨酸鸟氨酸含量的高效液相色谱(HPLC)法。方法 色谱柱为 Kromasil 100-5NH<sub>2</sub> 柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);以乙腈-0.05 mol·L<sup>-1</sup>磷酸二氢钾溶液(50:50)为流动相;流速为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>;检测波长为 210 nm;柱温 25 ℃;进样量为 20 μL。结果 3 批样品中门冬氨酸鸟氨酸的平均含量为 100.19%。门冬氨酸、鸟氨酸及门冬氨酸鸟氨酸在 600~1 500 μg·mL<sup>-1</sup>浓度范围内,都有良好的线性关系( $r=0.9997$ ),门冬氨酸鸟氨酸的平均回收率为 98.40%,RSD 为 0.19%。结论 该方法灵敏、快速、结果准确,可用于门冬氨酸鸟氨酸的含量测定。

**关键词** 门冬氨酸鸟氨酸;含量测定;色谱法,高效液相

中图分类号 R977.4;R927.2

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2012)12-1621-03

### Determination of Ornithine Aspartate Injection by HPLC

WANG Lu-lu, ZHENG Wen-sheng, CHEN Shao-hua, ZHANG Yu-jia, XIANG Li (Key Laboratory of Drug Delivery Technology and Novel Formulations of Beijing, Institute of Materia Medica, Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050, China)

**ABSTRACT Objective** To establish a high performance liquid chromatography (HPLC) method for the determination of ornithine aspartate injection. **Methods** The chromatographic separation was performed on a Kromasil100-5NH<sub>2</sub> column (4.6 mm×250 mm,5 μm). The mobile phase consisted of 0.05 mol·L<sup>-1</sup> potassium dihydrogen phosphate-acetonitrile (50:50), the flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, the detective wavelength was 210 nm, the column temperature was 25 ℃ and the sample size was 20 μL. **Results** The average content of ornithinaspaetant in three batches of samples was 100.19%. Aspartate, ornithine and ornithinaspaetant showed good linear relationships ( $r=0.9997$ ) in the range of 600-1 500 mg·mL<sup>-1</sup>. The average recovery was 98.40% (RSD=0.19%). **Conclusion** The method is sensitive, accurate, rapid and it is suitable for the assay of ornithine aspaetant injection.

**KEY WORDS** Ornithine aspartate injection; Content determination; High performance liquid chromatography

门冬氨酸鸟氨酸化学名称为(S)-2,5-二氨基戊酸(s)-2-氨基丁二酸盐,分子式:C<sub>9</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>,相对分子质量:265.27<sup>[1]</sup>。文献采用的高效液相色谱(HPLC)法为对其中的门冬氨酸及鸟氨酸分别测定,计算繁琐,并且鸟氨酸单体不稳定,难以得到标准品,对测定的准确性也有影响。笔者参考相关文献<sup>[2-4]</sup>,把门冬氨酸鸟氨酸作为一个整体进行测定,更加方便准确。与以门冬

氨酸及鸟氨酸为标准测定的门冬氨酸鸟氨酸含量进行比较,两者一致,现报道如下。

#### 1 仪器与试剂

**1.1 仪器** HP8453 紫外分光光度计(美国惠普公司);HPLC 仪(美国 Waters 公司),包括泵 515、紫外检测器 2487、自动进样器 717 plus Autosampler、ChromStation 色谱工作站;FA1004N 型电子分析天平(上海精密科学仪器有限公司)。

**1.2 试剂** 门冬氨酸鸟氨酸注射液(中国医学科学院药物研究所研制,规格为 1 mL:500 mg,批号为 20111001,2011102,20111003);门冬氨酸鸟氨酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号为 200701,含量为 99.2%)。乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

收稿日期 2012-03-04 修回日期 2012-07-06

**作者简介** 王璐璐(1973-),女,上海人,副研究员,硕士,主要从事制剂新技术及新的给药系统的研究工作。电话:(0)13621284066,E-mail:wanglulu@imm.ac.cn。

**通讯作者** 郑稳生(1967-),男,安徽人,副研究员,博士,主要从事制剂新技术及新的给药系统的研究工作。电话:(0)13601084817,E-mail:zhengwensheng@imm.ac.cn。