

HPLC 法测定维药罗补甫克比日丸中高良姜素的含量

司马义江·阿布都热西提 阿依努尔·阿木提
新疆维吾尔自治区喀什地区药品检验所, 新疆 喀什 844000

【摘要】 目的: 高效液相色谱法测定罗补甫克比日丸中高良姜素的含量。方法: 甲醇-0.2% 磷酸溶液 (65:35); 流速 1ml/min; 检测波长 266nm; 柱温: 25℃; 进样量: 10 μ l; 分析方法: 外标法。结果: 高良姜素在 0.19~9.76 μ g 范围内线性良好 ($r=1.0$), 方法精密 RSD 为 0.7% ($n=5$), 平均回收率为 98.65%, RSD 为 1.6% ($n=6$)。结论: 该方法简便、准确, 测得结果稳定性、重现性好, 可作为该制剂中高良姜素的含量测定方法。

【关键词】 HPLC; 高良姜素; 罗补甫克比日丸; 含量测定

【中图分类号】 R284.1

【文献标志码】 A

【文章编号】 1007-8517 (2014) 23-0008-02

Determination of galangal in Uygur Medicine Preparation Luobupukebiri Pills by HPLC

Simayijiang · Abudurexiti, Ayinuer · amuti
Kashi Institute for Drug Control, Kashi 844000, China

Abstract: Objective Determination of Luobupukebiri Pills solution of galangal. **Methods** A Methanol-0.2% phosphoric acid (65:35); flow 1ml/min; detection wavelength 266 nm column temperature: 25℃; injection volume: 10 μ L; analysis methods: external standard method. **Results** In 0.19~9.76 μ g. range of good linearity ($r=1.0$), method precision was RSD = 0.7% ($n=5$), the average recovery was 98.65%, RSD was 1.6% ($n=6$). **Conclusions** The method is simple, accurate, reproducibility measured results are stable and can be used in the preparation method for the determination of galangal.

Key words: HPLC; Galangin; Luobupukebiri Pills; content determination

罗补甫克比日丸是新疆维吾尔族名药之一, 具有温补脑肾、益心填精的功效, 主要用于阳痿、抑郁、早泄、滑精、体虚、消瘦、神经衰弱。配方主要由牛鞭、肉桂、苜蓿子、洋葱子、丁香、花椒、胡萝卜子、甜瓜子、巴丹仁、韭菜子等 30 味药材组成, 属部颁标准维吾尔药分册收录品种^[1]。多味药材组成制剂的药理作用, 来自于每一味药材药理作用的互相协调的综合结果。考查多味药材组成的药物制剂质量的时候应考虑每一味组分的质量。研究测定高良姜素的含量测定方法可以为该制剂的质量控制提供依据。

1 仪器和试剂

1.1 仪器 岛津高效液相色谱系统: 包括 LC20AT 型双泵, SIL20AC 型自动进样器, SPD20A 型 PDA 检测器; BP211D 型分析天平 (德国 Sartorius 公司)。

1.2 试剂 高良姜素对照品 (批号: 111699-200602) 由中国食品药品检定院提供; 罗补甫克比日丸 (批号: 20130830、20130836、20120419) 由和田维吾尔药业有限责任公司生产; 甲醇为色谱纯 (美国 TEDIA 试剂公司); 水为重蒸馏水; 其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: 岛津 VP-ODS (250 \times 4.6mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-0.2% 磷酸溶液 (65:35); 流速 1ml/min; 检测波长 266nm; 柱温: 25℃; 进样量: 10 μ l; 分析方法: 外标法^[2]。

2.2 系统适应性试验 按照对照品溶液制备方法及供试品溶液配制方法配分别制成对照品溶液及供试品溶液, 按预定的色谱条件, 分别进样 10 μ l, 采集光谱数据。结果显示, 供试品溶液与对照品溶液的色谱峰一致。保留时间为 10.3min。

2.3 对照品溶液的配制 精密称取高良姜素对照品, 加甲醇溶解, 摇匀并稀释制成 97.60 μ g/ml 的对照品溶液储备液。

2.4 供试品溶液的配制 取样品 (批号: 20130830、20130836、20120419) 50 粒, 研碎, 称取 1g, 精密称定, 置锥形瓶中, 精密加入甲醇 50ml, 称定重量, 加热回流 4h, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 用微孔滤膜 (0.45 μ m) 过滤, 取续滤液即得。

2.5 线性关系考察 精密量取对照品储备液 (97.6 μ g/ml) 0.2、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、10.0ml, 置 100ml 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 分别取 10 μ l, 按“2.1”色谱条件下操作, 以 8 次测定的峰面积平均值考察线性范围。线性方程为: $A=4.68 \times 10^6 C-3.49 \times 10^4$ ($r=1.0$), 结果表明, 高良姜素在 0.1952~9.760 μ g/ml 范围内线性关系良好。

2.6 精密度实验 精密量取对照品溶液储备液 (97.6 μ g/ml) 2ml 置 50ml 量瓶中加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 取 10 μ l, 重复进样 5 次, 以峰面积计算 RSD ($n=5$) 为 0.22%。证明本法有较高的精密度。

2.7 稳定性实验 取同一批号本品 (20130830), 按“2.4”方法配制溶液, 分别于 0、1、2、4、6h 进样, 进样量为 10 μ l, 测定高良姜素的峰面积, RSD 为 1.42%。

2.8 重现性实验 取同一批号本品 (20130830), 按“2.4”方法平行制备 5 份样品溶液, 在按“2.2”的方法进行测定, 并对所得数据进行处理, 结果测得高良姜素平均含量 ($n=6$) 为 256.1 μ g/g, RSD 为 1.2%。结果表明方法的重复性较好。见图 1。

2.9 加样回收率实验 精密量取已知含量的样品 (批号: 20130830, 含量 256.1 μ g/g), 称取 1g, 精密称定, 精密加入对照品溶液储备液 2ml, 再按“2.4”方法平行制备 6 份样品溶液, 用微孔滤膜 (0.45 μ m) 过滤, 取续滤液, 作为加样回收率样品。按照样品测定项下的方法测定含量, 计算回收率, 结果见表 1。

(下转第 11 页)

作者简介: 司马义江·阿布都热西提 (1973-), 男, 本科, 副主任药师。

应了体内氧自由基的代谢情况，而超氧化物歧化酶（SOD）可催化 1 分子 O₂ 氧化生成 O₂，另一分子 O₂ 还原生成 H₂O₂，后者通过过氧化酶作用还原成水，从而减少脑组织中氧自由基的含量，对抗脂质过氧化反应对组织的破坏，因此，具有抗氧化损伤活性的成分可能具有潜在的脑保护作用。本实验的研究表明，天然虾青素对大鼠 MCAO 模型的脑损伤具有显著的保护作用，可以缩小脑梗塞体积，改善神经病学评分，并且可明显提高模型动物血清中 SOD 活性，减少血清中 MDA 的含量，提示，天然虾青素的抗氧化作用可能是其抗脑缺血/再灌注损伤的机制之一。

参考文献

[1] Naguib Y M. Antioxidant activities of astaxanthin and related carotenoids [J]. J Agric Food Chem, 2000, 8: 1150-1154.
 [2] Khanna S, Roy S, Slivka A, et al. Neuroprotective properties of the natural vitamin E alpha-tocotrienol [J]. Stroke, 2005, 36: 2258-2264.
 [3] Zhang W R, Hayashi T, Kitagawa H, et al. Protective effect of ginkgo extract

on rat brain with transient middle cerebral artery occlusion [J]. Neurol Res, 2000, 22: 517-521.
 [4] Hsiao G, Fong T H, Tzu N H, et al. A potent antioxidant, lycopene, affords neuroprotection against microglia activation and focal cerebral ischemia in rats [J]. In Vivo, 2004, 18: 351-356.
 [5] Hirvonen T, Virtamo J, Korhonen P, et al. Intake of flavonoids, carotenoids, vitamins C and E, and risk of stroke in male smokers [J]. Stroke, 2000, 31, 2301-2306.
 [6] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rat [J]. Stroke, 1989, 20 (1): 84-91.
 [7] Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion: Evaluation of the model and development of a neuro-logical examination [J]. Stroke, 1986, 17 (3): 472-476.
 [8] 赵丹洋, 赵明奇, 吴伟康, 等. 中药 HDO2 抗脑缺血/再灌注损伤的作用及机制研究 [J]. 中药材, 2005, 28 (12): 1083-1085

(收稿日期: 2014. 10. 20)

(上接第 8 页)

表 1 加样回收率实验结果 (n=6)

供试品 取样量	样品中高良姜 素的含量 (μg)	高良姜素对照 品加入量 (μg)	实测总 量 (μg)	回收 率 (%)	平均回 收率 (%)	RSD (%)
1. 1162	285. 56	195. 20	462. 87	96. 22		
1. 0852	277. 92	195. 20	463. 23	97. 91		
1. 1352	290. 72	195. 20	459. 88	94. 64	96. 74	1. 5
0. 9981	255. 61	195. 20	442. 52	98. 16		
1. 1454	293. 34	195. 20	468. 16	95. 83		
1. 0254	262. 60	195. 20	447. 23	97. 69		

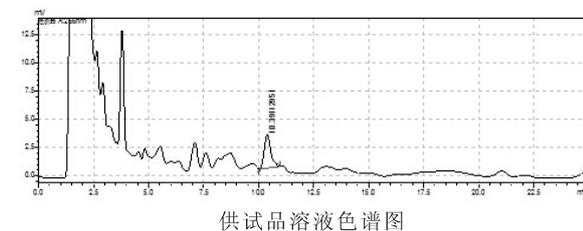
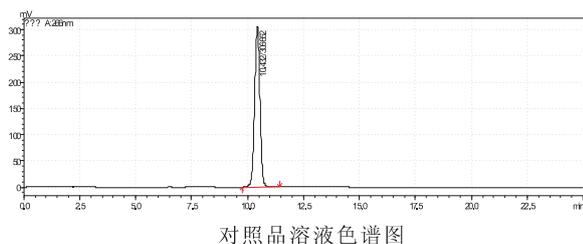


图 1 高良姜素 HPLC 色谱图

2. 10 样品测定 取 3 批样品按“2. 4”方法制备供试品溶液，按“2. 1”色谱条件下测定，按外标法计算高良姜素的含量。结果见表 2。

表 2 罗补甫克比日丸中高良姜素的含量测定结果 (mg/g, n=3)

批号	20130830	20130836	20120419
含量	256. 1	237. 6	261. 4

3 讨论

3. 1 检测波长的验证 取高良姜素对照品储备液

(97. 60 μg/ml) 用甲醇稀释成 9. 760 μg/ml 溶液，用紫外可见分光光度计于 240 ~ 300nm 处进行扫描，从其紫外图谱中可见其在 266nm 处有比较强的最大吸收，与有关参考文献^[3]报道的 266nm 一致，故选择 266nm 为检测波长。

3. 2 流动相的选择 根据参考文献报道的方法试验，流动相用甲醇-0. 2% 磷酸溶液 (55:45)^[2]，甲醇-0. 4% 磷酸溶液 (60:40)^[3]，在该制剂中高良姜素的分离效果均不佳，通过不断改变甲醇与 0. 2% 磷酸溶液的比例及流速，选定甲醇-0. 2% 磷酸溶液 (65:35) 及流速 1ml/min 比较合适，分离度好且保留时间适宜。

3. 3 提取方法的选择 根据参考文献^[2] 甲醇作为溶剂采用加热回流 1、2、4h，结果加热回流 2h 和 4h 的测定结果接近，为保证提取完全，确定加热回流 4h。

本实验测定了和田维吾尔药业有限责任公司不同批号的罗补甫克比日丸中高良姜素的含量，结果表明所建立的方法简单，可靠，重现性好，结果准确，为罗补甫克比日丸的质量控制提供了有效的依据。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 卫生部药品标准 (维吾尔药分册) [S]. 1998: 194.
 [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (一部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 270-271, 附录 36.
 [3] 李智勇, 孙冬梅. HPLC 法测定高良姜中高良姜素和山奈素的含量 [J]. 中华中医药杂志, 2010, 25 (9): 1368-1370.

(收稿日期: 2014. 09. 10)