

HPLC 测定维药罗补甫克比日丸中丁香酚的含量

司马义江·阿布都热西提 木合塔尔·木明

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丁香酚的含量。方法: 甲醇-5% 甲醇溶液 (50:50); 流速 1 mL/min; 检测波长 225 nm; 柱温: 25℃; 进样量: 10 μL; 分析方法: 外标法。结果: 丁香酚在 6.32 ~ 126.46 μg/mL 范围内线性良好 ($r = 0.9995$), 方法精密度为 RSD 为 0.7% ($n = 5$), 平均回收率为 97.2%, RSD 为 1.3% ($n = 6$)。结论: 该方法简便、准确、测得结果稳定重现性好, 可作为该制剂中丁香酚的含量测定方法。

【关键词】 HPLC; 丁香酚; 罗补甫克比日丸; 含量测定

【中图分类号】 R29

【文献标志码】 A

【文章编号】 1007-8517 (2013) 20-0001-02

Determination of Uyghur Medicine Preparation Luobupukebiri Pills Solution of Eugenol by HPLC

Simayijiang Abudurexiti Muhetaer Muming

(Kashi Institute for Drug Control, Kashi Xinjiang 844000, China)

Abstract: **Objective** Determination of Luobupukebiri pills solution of Eugenol. **Methods** A methanol, 5% methanol (four Fifty - Fifty); flow 1 mL/min; detection wavelength 225 nm column temperature: 25℃; injection volume: 10 μL; analysis methods: external standard method. **Results:** Eugenol. in 6.32 ~ 126.46 μg/mL range of good linearity ($r = 0.9995$), method precision was RSD = 0.7% ($n = 5$), the average recovery was 97.2%, RSD was 1.3% ($n = 6$). **Conclusions** The method is accurate and measured results are stable and reproducible and can be used in the simple preparation of Eugenol method.

Key words: HPLC; Eugenol; Luobupukebiri pills; content determination

罗补甫克比日丸是新疆维吾尔族名药之一, 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。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, 属部颁标准-维吾尔药分册收录品种^[2]。部颁标准仅采用定性鉴别试验来控制该制剂的质量, 研究该成分的含量测定方法可以更好的反映和控制本品的内在质量。

1 仪器和试剂

1.1 仪器 岛津高效液相色谱系统: 包括 LC 20AT 型双泵, SIL 20AC 型自动进样器, SPD-M 20A 型 PDA 检测器; 岛津 uv-2450 紫外可见分光光度计; BP211D 型分析天平 (德国 Sartorius 公司)

1.2 试剂 丁香酚对照品 (批号: 110725-200711, 中国药品生物制品鉴定所); 罗补甫克比日丸 (批号: 20110830、20110836、20120419, 和田维吾尔药业有限责任公司); 甲醇为色谱纯; 水为重蒸馏水; 所有色谱用试剂均用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 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 × 4.6 mm 5 μm; 流动相: 甲醇-5% 甲醇溶液 (50:50), 流速 1 mL/min, 检测波长 225 nm, 柱温 25℃; 进样量: 10 μL; 分析方法: 外标法^[1]。

2.2 对照品溶液的配制 精密称取丁香酚对照品, 加流动相溶解制成 1.2646 mg/mL 的溶液, 精密量取 5 mL 置 50 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 制成 126.46 μg/mL 的溶液, 作为对照品溶液储备液。

2.3 供试品溶液的配制 取样品 (批号: 20110830、20110836、20120419), 研碎, 称取 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入流动相 50 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理 (功率 250 W, 频率 50 kHz) 30 min, 擦干, 放冷, 再称定重量, 用流动相补足减失的重量, 用微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 取续滤液即得。

2.4 系统适应性试验 分别按照 2.2、2.3 项下方法制备对照品溶液及供试品溶液, 按 2.1 项下色谱条件, 各进样 10 μL, 同时采集 225 nm 光谱数据, 结果显示, 供试品溶液相应色谱峰的光谱与对照品丁香酚一致。丁香酚对照品保留时间为 11.2 min, 理论塔板数大于 6000。

2.5 线性关系考察 精密量取对照品储备液 (126.46 μg/mL) 0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、10.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 分别取 10 μL, 按“2.1”项下色谱条件下操作, 以 6 次测定的峰面积平均值考察线性范围。线性方程为: $Y = 1.09 \times 10^{-4} X + 1.54$ ($r = 0.9995$), 结果表明, 丁香酚在线性范围: 6.32 ~ 126.46 μg/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 (126.46 μg/mL) 5 mL 置 25 mL 量瓶中加入流动相稀释至刻度, 摇匀, 取 10 μL, 重复进样 5 次, 以峰面积计算 RSD ($n = 5$) 为 0.69%。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 (20110836), 按“2.6”方法配制溶液, 分别于 0、1、2、4、6 h 进样, 进样量为 10 μL, 测定丁香酚的峰面积, RSD 为 1.68%, 表明样品在 6 h 内稳定。

2.8 重复性实验 取同一批号本品 (20110836), 平行制备 5 份样品, 按样品测定法测定, 并对所得数据进行处理, 结果测得丁香酚含量的 RSD 为 1.28%。

2.9 加样回收率实验 精密量取已知含量的样品 (批号: 20110836, 含量 860.7 μg/g) 称取 1 g, 精密称定, 置 50 mL 容量瓶中, 精密加入丁香酚对照品溶液储备液 (浓度为 126.46 μg/g) 5 mL, 再加流动相适量密塞, 超声处理 (功率 250 W, 频率 50 kHz) 30 min, 放冷, 加流动相至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 取续滤液, 作为加样回收率样品。同法制备 6 份加样回收率样品。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 4 页)

作者简介: 司马义江·阿布都热西提 (1973-), 男, 大学本科, 主管药师。E-mail: simayi1102@126.com

师)。这一类的医师大约有两种,一种是纯粹采用草药进行治疗,大多采用草药作为外包、外涂、外熏等技术手段治疗方法;另一种则是纯粹采用传统的巫医治疗方法,大多是采用神秘的口功和咒语吹、拍、按摩等技术疗法。二者都很奏效,但是后者很是让人觉得神秘和怪异,有的地方简直让人难以置信。有骨折患者就医时,作为骨医虽然治疗的方法奇特和神秘甚至有悖于科学的原理,但关键环节还是需要遵循科学原理,需科学性地连接好骨折之处,哪怕是粉碎性的骨折也同样需要连接复位,其次再作医治疗法。病人的骨折,无论是哪个部位的受折,诊疗的方法均是雷同的手段,就是依靠咒语的吹和揉。这种的治疗方法完全与包草药的治疗方法是背道而驰,正常的包草药治疗方法是忌动弹和揉动,一般是需要静态,让受损部位在静态下逐渐恢复原状。而神秘的口功咒语语法是一反常态,每天都需要不停地抚摸和按摩,具体是口中念念有词,在温水上吹一吹,在手上吹一吹,用双手蘸上温水以后拍拍受损部位,不吃药、不打针每天要重复数次类似的诊治方法。神秘的是凭着类似的治疗方法其疗效性要快于包草药的治疗方法,同样的病,不同的诊疗方法,最终的疗效是一样,并且在疗程上要来得更快。傣族的类似传统诊疗方法其神秘在于咒语上,医师所念的咒语没有人能够听懂,这种的咒语纯粹就是一种无法解释的密码组合,最终组合为一段句子,而类似的句子没有谁能够解释。类似的医师无论是接到什么样的病人,骨折的程度如何都无所谓,他们基本上是手到病除,并且丝毫不隐瞒自己疗法的观点,而且都很自信地首先预告给病人,你的病在数日内会痊愈,这种传统医药和疗法在这里很受当地的群众欢迎,很多患者纷至沓来。当然,无论是旁观者还是患者,大家都怀着一种好奇和惊奇的心理,对神秘诊疗方法百思不得其解。

傣族神秘的骨医文化是他们自己传统的医药文化从远古一直传承下来的谜团,类似的文化具备了社会性、自然性和文化性,代代相传,但有一种不成文的传男不传女的规矩。我们研究和探讨傣族神秘的骨医,不能孤立的、禁止的来分

析,必须与傣族文化和其他之间的关系,傣族医药文化发展与其他民族的医药文化发展、演变、交流联系起来。傣族有不少的医药文化是在自己的社会活动、社会实践中不断总结和摸索出来的,但也不排除与其他民族文化的交流过程中,在发展和演变的过程中吸取他人的长处,尤其是他们早期定居中原的时候,就与汉族的先进文化相互交流、交融,把汉族的很多先进的东西学到了手。以致后来迁徙到了南方各地,最终稳定在西双版纳这里,包括一些巫医也都有着与其他民族联系、交流的痕迹,有不少的文化在傣族文化中他们自己部族内部也是充分肯定的。所以,傣族的医药文化,它的形成、发展、演变、规律和趋势等等均是一个动态的过程,开放的过程,包容和接纳的过程。

当然,类似的神秘巫医疗法,采用传统的咒语医治表面上很是让人错愕,但是,这种神秘的施诊我们认真地静静思考可以看出不少的漏洞和弊端。纯粹的科学态度是实事求是的,所谓神秘的咒语有没有,属不属实且不讲,可是必须承认一般性的病情都有自身的生理内部结构自然而然修复痊愈的功能,骨折也不例外,均有自然愈合的功能,药物治疗是起到催化作用。从一个人的生理结构来看,在生长素存在之前,尤其是生长素旺盛时期,一般的小疾病如普通感冒等是能自我修复痊愈的。所谓的神秘咒语、神秘口功等,凡采用巫术行为的疗法一般都存在一种神秘的自然内在现象。在傣族的医药疗法中有各种各样的施诊手段,最常见的是按摩手段,身体不适要按摩,受到内伤需要按摩,感冒头痛也要按摩。傣族认为按摩就是一种有效的治疗手段,这不仅在傣医而且在中医和其他医疗上同样是一种很好的治疗方法,尤其是生理结构上出现血脉不通,软组织受损甚至是手脚麻木等,采用按摩治疗是很有效的方法。巫医采用的是按摩式治疗方法,用按摩的方式替代了用药方式,神秘及怪异跟按摩应是密不可分的。

参考文献

- [1] 依专,吴永贵. 傣医药学史 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 1-34.
(收稿日期: 2013.02.16)

(上接第1页)

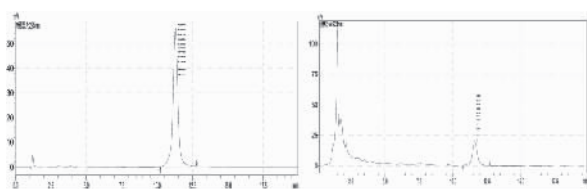
表1 加样回收率实验结果 (n=6)

供试品 取样量	样品中 丁香酚 含量 (μg)	丁香酚对 照品加入 量 (μg)	实测总量 (μg)	回收率 (%)	平均 回收率 (%)	RSD (%)
1.0044	864.49	632.30	1457.87	97.4		
1.0057	865.61	632.30	1440.99	96.2		
1.0103	869.56	632.30	1435.78	95.6	97.2	1.3
1.0026	862.94	632.30	1484.77	99.3		
1.0182	876.36	632.30	1473.97	97.7		
1.0079	867.50	632.30	1451.81	96.8		

2.10 样品测定 取3批样品按“2.3”方法制备供试品溶液,按“2.1”色谱条件下测定,按外标法计算没食子酸含量。结果见表2。对照品和供试品色谱图见图1。

表2 罗补甫克比日丸中丁香酚的含量测定结果 (n=3) mg/mL

批号	20110830	20110836	20120419
含量 μg/g	843.6	860.7	892.7



丁香酚对照品色谱图 罗补甫克比日丸色谱图
图1 HPLC 色谱图

3 讨论

3.1 检测波长的选择 取丁香酚对照品适量,用流动相溶解并稀释成 0.1mg/ml 溶液,用紫外可见分光光度计于 200~400nm 处进行扫描,从其紫外图谱中可见其在 225nm、280nm 处有最大吸收,但在 225nm 处吸收比较强,故选择 225nm 为检测波长。

3.2 流动相的选择 参考文献报道的方法试验,流动相用甲醇-水 (65:35) [3],甲醇-水 (58:42) [4],在该制剂中丁香酚的分离效果均不佳,通过不断改变甲醇与水的比例及流速,选定甲醇-5% 甲醇溶液 (50:50) 及流速 1ml/min 比较合适,分离度好且保留时间适宜。

本实验测定了不同批号的罗补甫克比日丸,结果均能检出丁香酚,但含量有所差异。本篇通过实验研究,建立了罗补甫克比日丸中丁香酚含量的 HPLC 测定法,本法取样量少,方法简单,重现性好,结果准确,可作为质量控制分析方法,为丁香酚的含量测定提供了有效的方法。

参考文献

- [1] 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: 附录 36.
[2] 中国药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准 (维吾尔药分册) [M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1998: 155.
[3] 余小平. 高效液相色谱法测定丁香中丁香酚的含量 [J]. 中国药物分析杂志, 2008, 28 (6): 975.
[4] 吴军侠,赵红侠. 高效液相色谱法测定蒙药暖宫七味散中丁香酚含量 [J]. 中国药业, 2010, 19 (5): 31.

(收稿日期: 2013.08.16)