

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.15.018

高效液相色谱法测定藏药八味阿魏丸中沉香四醇含量*

尼珍,巴桑卓嘎,德白啦,达娃卓玛

(西藏自治区食品药品检验研究院·西藏自治区藏药标准化研究重点实验室,西藏 拉萨 850000)

摘要:目的 建立测定藏药八味阿魏丸中沉香四醇含量的高效液相色谱(HPLC)法。方法 色谱柱为 Thermo C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-水(28:72, V/V),检测波长为 252 nm,流速为 1.0 mL/min,柱温为 38℃。结果 沉香四醇质量浓度在 12.4~124.0 μg/mL ($R^2=0.9996$) 范围内与峰面积线性关系良好,平均回收率为 95.54%,RSD 为 1.71% ($n=9$)。结论 该方法简便、准确,重复性好,可用于八味阿魏丸的质量控制。

关键词:八味阿魏丸;沉香四醇;高效液相色谱法

中图分类号:R932;R284.1;R286.0

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2020)15-0068-03

Content Determination of Agarotetrol in Tibetan Medicine Bawei Awei Pills by HPLC

Nizhen, Basangzhuoga, Debaila, Dawazhuoma

(Tibetan Institute for Food and Drug Control, Lasa, Tibet, China 850000)

Abstract: Objective To establish a high performance liquid chromatography(HPLC) method for determining the content of agarotetrol in Bawei Awei Pills. **Methods** The chromatographic column was the Thermo C₁₈ column(250 mm×4.6 mm, 5 μm); the mobile phase was methanol-water(28:72, V/V), the detection wave length was 252 nm, and the flow rate was 1.0 mL/min, the column temperature was 38℃. **Results** The calibration curves were linear in the range of 12.4-124.0 μg/mL ($R^2=0.9996$) for agarotetrol. The average recovery was 95.54%, RSD was 1.71% ($n=9$). **Conclusion** The method is simple, realizable, and reproducible, which can be used for the quality control of Bawei Awei Pills.

Key words: Bawei Awei Pills; agarotetrol; high performance liquid chromatography

八味阿魏丸是藏医临床习用藏药,现为医疗机构制剂,是由阿魏、沉香、豆蔻、丁香、藏茴香、木香、当归、羊脑浆和苦奎组方的复方制剂,具有调和“培龙”、温补气血功效,用于“培龙”病引起的头痛、头晕、失血性贫血、脑供血不足、脑缺氧等症^[1]。处方中含阿魏酸、木香炔内酯、沉香四醇、去氢木香炔内酯、山姜素、丁香酚等化学成分。君药阿魏的指标成分阿魏酸也是当归中的指标成分,存在干扰;沉香为臣药,占处方组分的 17.5%,沉香四醇等 2-(2-苯乙基)色原酮类化合物为沉香中主要药效成分之一,有抗过敏、温中止呕、行气止痛、抗氧化损伤等功效^[2],常用于治疗寒性胃痛、老年性肠梗阻等胃肠道疾病^[3],同时是名贵天然香料^[4]。目前,八味阿魏丸尚无国家或地方药品标准,为使药品的质量可控,本研究中采用高效液相色谱(HPLC)法测定制剂中的有效成分沉香四醇的含量。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters1525 型液相色谱仪(配 DAD 检测器、Empower 工作站,美国 Waters 公司);KQ-50B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率为 200 W,频率为 40 kHz);CPA225D 型 Sartorius 电子天平(德国赛多利斯公司,精度为 0.01 mg)。

1.2 试剂

沉香四醇对照品(中国食品药品检定研究院,批号为 111980-201602,供含量测定用);八味阿魏丸(来源见表 1),置干燥器中备用;甲醇和乙腈为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

表 1 10 批八味阿魏丸样品来源

编号	样品来源	编号	样品来源
1	林芝藏医院	6	门孜康制剂中心
2	林芝藏医院	7	门孜康制剂中心
3	山南市藏医院	8	阿里藏医院
4	那曲藏医院	9	阿里藏医院
5	那曲藏医院	10	日喀则藏医院

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

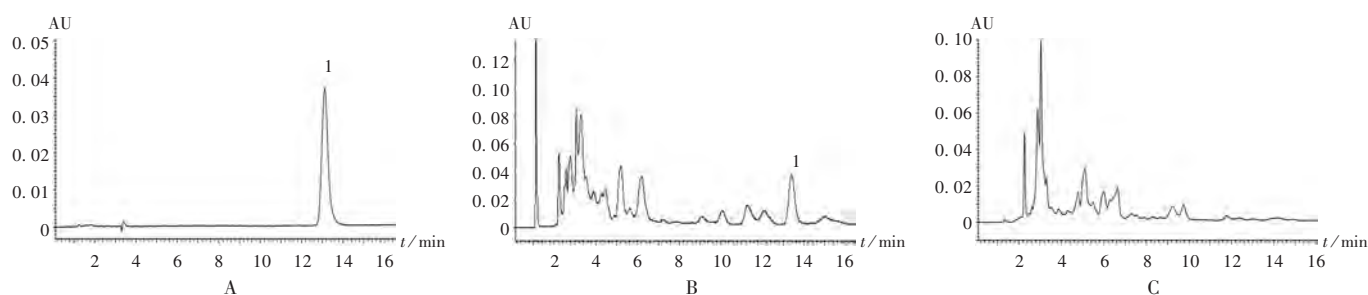
色谱柱:Thermo C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水(28:72, V/V);流速:1.0 mL/min;柱温:38℃;检测波长:252 nm。理论板数按沉香四醇峰计应不低于 4 000。

2.2 溶液制备

对照品溶液:取沉香四醇对照品约 1.2 mg,精密称定,置 10 mL 容量瓶中,用无水甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

*基金项目:西藏自治区科技计划项目[Z2016B01G03/01]。

第一作者:尼珍,女,藏族,主任药师,硕士研究生,研究方向为药品检验及质量标准,(电子信箱)nizhen1221@163.com。



1. 沉香四醇

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图1 沉香四醇的高效液相色谱图

供试品溶液:取本品粉末约1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入60% 甲醇10 mL,密塞,称定质量,浸泡0.5 h,超声处理(功率为250 W,频率为40 kHz)60 min,放冷,再称定质量,用60% 甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

阴性对照品溶液:将八味阿魏丸处方中除沉香外的药材粉末同处方量比例配成阴性对照品,按供试品溶液制备方法制备,即得。

2.3 方法学考察

专属性试验:吸取2.2项下3种溶液,按拟订色谱条件进样测定,并用二极管阵列检测器在200~500 nm波长范围内对峰进行确证。结果供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相同保留时间处有相应峰,且为同一物质,而阴性对照无干扰。结果见图1。

线性关系考察:以无水甲醇为溶剂,精密配制12.4,24.8,37.2,62.0,99.2,124.0 $\mu\text{g/mL}$ 系列质量浓度的对照品溶液,分别进样10 μL ,按拟订色谱条件进样分析,以沉香四醇质量浓度(X)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y=31556X+11112$, $R^2=0.9996$ ($n=6$)。结果表明,沉香四醇质量浓度在12.4~124 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:精密吸取同一对照品溶液10 μL ,连续测定6次。结果的 RSD 为1.68%($n=6$),表明仪器精密良好。

重复性试验:称取同一编号(编号2)样品6份,依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样测定。结果的 RSD 为1.59%($n=6$),表明方法重复性良好。

稳定性试验:取同一编号(编号3)样品,依法制备供试品溶液,分别于0,1,2,4,8,10 h时进样测定。结果的 RSD 为1.42%($n=6$),表明供试品溶液在10 h内稳定。

耐用性试验:取同一编号(编号5)样品,依法制备供试品溶液,分别用2个不同品牌(Waters1525型和Agilent1260型)的高效液相色谱仪进行测定。结果的

RSD 为1.18%,表明方法耐用性较好。

加样回收试验:取已知含量的样品(编号为5,沉香四醇的含量为0.239 mg/g)约1.143 g,精密称定,共9份,置具塞锥形瓶中,分别精密加入对照品溶液(含沉香四醇的量为样品中沉香四醇含量的80%,100%,120%)各3份,再精密加入60%无水甲醇10 mL,依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样,计算回收率。结果见表2。

表2 沉香四醇加样回收试验结果($n=9$)

取样量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
1.143	0.273 2	0.218 6	0.489	98.72	95.54	1.71
1.143	0.273 2	0.218 6	0.487	97.80		
1.143	0.273 2	0.218 6	0.479	94.14		
1.143	0.273 2	0.273 2	0.532	94.73		
1.143	0.273 2	0.273 2	0.534	95.46		
1.143	0.273 2	0.273 2	0.534	95.46		
1.143	0.273 2	0.327 8	0.584	94.81		
1.143	0.273 2	0.327 8	0.583	94.51		
1.143	0.273 2	0.327 8	0.582	94.20		

2.4 样品含量测定

取收集到的样品共10批,依法制备供试品溶液,各吸取10 μL ,按拟订色谱条件进样测定。结果编号1~10样品中沉香四醇含量分别为0.099,0.100,0.014,0.246,0.239,1.540,1.540,0.006,0.004,0.003 mg/g($n=2$)。

3 讨论

3.1 提取方法考察

取本品粉末约1.0 g,共2份,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入无水甲醇10 mL,密塞,称定质量,浸泡0.5 h,分别超声处理、回流提取60 min,放冷,再称定质量,用无水甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,作为供试品溶液。按拟订色谱条件进行测定,结果回流法和超声法对沉香四醇的提取效率相当,但超声法提取简便、耗能少、环保,故选择超声提取。