

HPLC 法同时测定藏药七味铁屑丸中木香烯内酯和去氢木香内酯

冯 欣¹, 鲁晓光², 罗布扎西¹, 登巴达吉^{1*}

(1. 中国藏学研究中心藏医药研究所 北京 100101; 2. 河南省南阳市食品药品监督管理局 河南 南阳 473061)

摘要:目的 建立以反相高效液相色谱法同时测定七味铁屑丸(铁屑、寒水石、藏木香、木香、甘青青蓝、红花、五灵脂膏)中木香烯内酯和去氢木香内酯的方法。方法 采用 HPLC 法,色谱柱为 Welchrom Materials 柱 C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm) 流动相 甲醇-水(65:35 v/v);检测波长 225 nm;柱温 30℃;体积流量 1.0 mL/min。结果 木香烯内酯线性范围为 0.011 5~0.115 mg/mL;去氢木香内酯线性范围为 0.011 9~0.119 mg/mL 相关系数分别是 0.999 9 和 0.999 8;平均加样回收率木香烯内酯为 100.96%(RSD 为 1.28% n=6);去氢木香内酯为 100.74%(RSD 为 1.04% n=6)。结论 本法简便、准确、快速,可用于七味铁屑丸的质量控制。

关键词: 木香烯内酯;去氢木香内酯;七味铁屑丸;HPLC;藏药

中图分类号: R927.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-4528(2011)09-1535-04

Determination of costunolide and dehydrocostuslactone in Qiwei Tiexue Pill by RP-HPLC

FENG Xin¹, LU Xiao-guang², LUO Bu-zha-xi¹, DENG ba-da-ji^{1*}

(1. Institute of Tibetanmedicine, China Tibetology Research Center, Beijing 100101, China; 2. Nanyang City Institute for Food and Drug Control of Henan Province, Nanyang 473061, China)

ABSTRACT: **AIM** To establish a RP-HPLC method for determining costunolide and dehydrocostuslactone in Qiwei Tiexue Pill (*Ferri Frusta*, *Gypsum seu Calcitum*, *Inula helenium* L., *Aucklandiae Radix*, *Carthami Flos*, *Dra-coccephalum tanguticum* Maxim, extract of *Trogopteri seu Pteromydis Excrementum*). **METHODS** Welchrom Materials C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm) column was used with methanol-water(65:35) as mobile phase. The flow rate was 1.0 mL/min and column temperature was maintained at 30℃. The detection wavelength was set at 240 nm. **RESULTS** The linear ranges of costunolide and dehydrocostuslactone were in the range of 0.011 5–0.115 mg/mL($r=0.999\ 9$) and in the range of 0.011 9–0.119 mg/mL($r=0.999\ 8$) with average recoveries of 100.96%(RSD was 1.28%, $n=6$) and 100.74%(RSD was 1.04%, $n=6$), respectively. **CONCLUSION** The method is simple, accurate and rapid for the quality control of Qiwei Tiexue Pill.

KEY WORDS: costunolide; dehydrocostuslactone; Qiwei Tiexue Pill; HPLC; Tibet medicine

七味铁屑丸由铁屑(诃子制)、寒水石(奶制)、藏木香、木香、甘青青蓝、红花、五灵脂膏等七味药材组成,系治疗肝病、胃病的藏族验方^[1],收载于《中国药典》2010 年版一部^[2]。该药具有行气活血,平肝清热止痛之功效,用于肝区疼痛,肝脏肿大^[1-2]。木香为该药中的主药之一,为菊科植物木香的干燥根。木香的化学成分较为复杂,含有挥发油、生物碱、内酯等多种成分,而主要活性成分为木香烯内

酯和去氢木香烯内酯等挥发油类物质^[3]。药理研究表明,木香烯内酯和去氢木香内酯是木香的主要成分,具有松弛平滑肌、解痉、抗菌以及降压作用^[4]。为了提高该藏药质量,保证其临床用药的稳定性,特对七味铁屑丸中的木香中的木香烯内酯和去氢木香内酯作为指标成分进行 HPLC 定量测定法研究,结果表明,本试验方法简便快速,结果可靠,可有效控制药品质量。

收稿日期: 2011-04-07

作者简介: 冯 欣(1982—) 男,药学硕士,从事藏药研究。Tel: (010) 64972883, E-mail: fengxin0303@163.com

* 通信作者: 登巴达吉(1959—) 男(藏),藏医副主任医师,从事藏医药研究。E-mail: dbdj2009@live.cn

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Waters 2695 液相色谱仪, waters 2996 检测器, Empower 2 色谱工作站(美国); 色谱柱 Welchrom Materials 柱 C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 超声波清洗器 model c5860A(天津市科贝尔光电技术有限责任公司); Sartorius BP211D 电子天平(德国)。

1.2 试剂 木香烃内酯对照品(111524-200402)和去氢木香内酯对照品(111525-200404)均由中国药品生物制品检定所提供; 甲醇为色谱纯, 水为重蒸馏水, 其它试剂均为分析纯。

七味铁屑丸购于市场同一生产厂家的产品(批号: 20100301 20090801 20100412)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Welchrom Materials 柱 C₁₈ 250 mm × 4.6 mm 5 μm; 流动相: 甲醇-水(65:35); 检测波长 225 nm; 体积流量 1 mL/min; 进样量 10 μL; 柱温: 30 °C。在此色谱条件下, 样品中木香烃内酯和去氢木香内酯的保留时间分别是 16.72 min 和 19.21 min, 理论塔板数分别为 12 126 和 12 835, 与其它组分峰分离度均大于 1.5。

2.2 测定方法 分别吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性样品溶液, 按 2.1 项色谱条件测定, 采用外标法计算即得。结果阴性对照样品对测定无干扰, 供试品分离度符合要求, 见图 1。

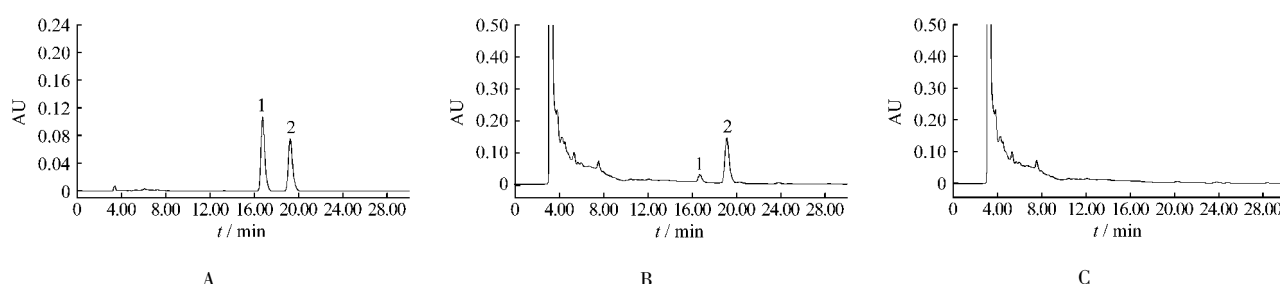


图1 RP-HPLC 色谱图

Fig.1 RP-HPLC chromatograms

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性样品溶液 1. 木香烃内酯 2. 去氢木香内酯
A. reference substances B. sample C. negative sample 1. costunolide 2. dehydrocostuslactone

2.3 溶液的制备

2.3.1 对照品溶液制备 精密称取木香烃内酯对照品 11.50 mg 和去氢木香内酯对照品 11.90 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 得每 1 mL 含木香烃内酯 0.23 mg、去氢木香内酯 0.238 mg 的溶液, 作为对照品贮备液; 精密吸取 5 mL 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 即得每 1 mL 含木香烃内酯 0.115 mg、去氢木香内酯 0.119 mg 的对照溶液。

2.3.2 供试品溶液制备 取样品适量, 粉碎, 精密称取 1.5 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 密塞, 称定质量, 放置过夜, 超声处理(功率 350 W, 频率 35 kHz) 30 min, 放冷, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.3.3 阴性对照溶液制备 委托某制药股份有限公司按七味铁屑丸处方制得不含木香的阴性样品; 依供试品溶液的制备方法制得阴性对照溶液。

2.4 线性关系考察 精密称取木香烃内酯和去氢木香内酯对照品贮备液 25 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 即得每 1 mL 含木香烃内酯 0.115 mg、

去氢木香内酯 0.119 mg 的对照溶液。精密吸取 1.0、2.0、4.0、8.0、10.0 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 按上述 2.1 项色谱条件测定。以测得的峰面积为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 绘制成标准曲线, 求得回归方程为: 木香烃内酯为 $Y = 22\,912\,000X - 23\,874$, $r = 0.999\,9$, 线性范围为 0.011 5 ~ 0.115 mg/mL; 去氢木香内酯为 $Y = 17\,312\,906X - 4\,112$, $r = 0.999\,8$, 线性范围为 0.011 9 ~ 0.119 mg/mL。

2.5 精密度试验 精密吸取对照品溶液, 按 2.1 项下方法重复进样 5 次, 测得木香烃内酯和去氢木香内酯峰面积, 其 RSD 值分别为 0.64% 和 0.74%, 表明精密度良好。

2.6 重复性试验 取同一批号样品 5 份, 按 2.1 项下方法连续测定, 测得木香烃内酯和去氢木香内酯峰面积, 其 RSD 为 0.95% 和 0.88%, 表明本方法重复性良好。

2.7 稳定性试验 精密吸取同一份样品液, 按 2.1 项下方法进行测定, 分别于 0、4、8、12、16、24 h 进行

测定,记录峰面积,以峰面积计算 RSD,木香烃内酯和去氢木香内酯的 RSD 分别为 1.61% 和 1.82%,结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.8 回收率试验 取已测得木香烃内酯和去氢木香内酯量的 6 份样品粉末(批号为 20100301),每份 0.6 g。每份精密加入用甲醇制备的每 1 mL 含木香烃内酯和去氢木香内酯的对照品混合溶液适量,按 2.3 项下方法制成供试品溶液,再按 2.1 项下方法分别测定。计算回收率,结果见表 1、表 2。

表 1 木香烃内酯回收率试验结果

Tab. 1 Recovery test results of costunolide

取样量	样品原有	加入量	测得量	回收率	平均回收	RSD
/g	量/mg	/mg	/mg	/%	率/%	/%
0.605 2	0.214 0	0.230 0	0.456 7	102.86		
0.594 8	0.210 4	0.230 0	0.447 3	101.57		
0.606 5	0.214 5	0.345 0	0.554 7	99.14		
0.612 1	0.216 5	0.345 0	0.564 1	100.46	100.96	1.28
0.609 4	0.215 5	0.460 0	0.677 3	100.27		
0.598 1	0.211 5	0.460 0	0.681 1	101.43		

表 2 去氢木香内酯回收率试验结果

Tab. 2 Recovery test results of dehydrocostuslactone

称样量	样品原有	加入量	测得量	回收率	平均回收	RSD
/g	量/mg	/mg	/mg	/%	率/%	/%
0.605 2	2.048 4	0.238 0	2.321 8	101.55		
0.594 8	2.013 2	0.238 0	2.238 8	99.45		
0.608 2	2.058 6	0.357 0	2.433 5	100.74		
0.612 1	2.071 8	0.357 0	2.477 9	102.02	100.74	1.04
0.609 4	2.062 6	0.476 0	2.566 3	101.09		
0.598 1	2.024 4	0.476 0	2.489 4	99.56		

2.9 样品测定 取由市场购得同一生产厂家的产品 3 批,批号分别为: 20100301, 20090801 和 20100412 按 2.3.2 项下方法制成供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件分别测定。计算结果见表 3。

表 3 3 批样品测定结果 (n=3)

Tab. 3 Results of sample determination (n=3)

批号	木香烃内酯	RSD	去氢木香内酯	RSD
	/(mg/丸)	/%	/(mg/丸)	/%
20100301	0.244 2		2.298 0	
20100301	0.239 4	1.00	2.315 8	0.65
20100301	0.242 1		2.286 2	
20090801	0.265 8		2.427 4	
20090801	0.260 3	1.11	2.413 9	0.30
20090801	0.261 4		2.424 3	
20100412	0.255 5		2.367 5	
20100412	0.251 7	1.12	2.353 1	0.72
20100412	0.250 0		2.334 1	

3 讨论

3.1 供试品溶液的制备主要参考了《中国药典》2010 年版一部中“木香”药材含量测定下的制备方

法及相关文献[5-11],采用超声处理,分别采用超声 20 min、30 min、40 min 进行试验,发现超声 30 min 所得木香烃内酯和去氢木香内酯量比较高,所以采用超声 30 min 进行提取。木香烃内酯和去氢木香内酯具有挥发性,具文献报道提取温度对其提取率影响比较大^[12],所以超声时要注意水温,在超声 15 min 换水后继续超声,取得比较好结果。

3.2 参考文献[13-15]并比较了用乙酸乙酯、甲醇和三氯甲烷作为提取溶剂,从测定结果的比较可以看出,采用三氯甲烷提取时,杂质最少,采用甲醇提取时,木香烃内酯和去氢木香内酯的提取率最高,综合考虑,最终选定甲醇作为提取溶剂。

3.3 实验表明本试验方法简便快速,灵敏度高,专属性强,重复性好,结果可靠,可同时测定七味铁屑丸中木香烃内酯和去氢木香内酯,以有效控制药品质量。HPLC 法快速、灵明度高、专属性和重现性好,且结果可靠,可以更加有效地控制藏成药产品的质量。

参考文献:

- [1] 青海省藏医药研究所藏医药经典文献集成编委会. 居米旁医著集[M]. 北京: 民族出版社, 2006: 119-120.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2010 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 57-58.
- [3] 肖培根. 新编中药志: 第一卷[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001: 184-200.
- [4] 王永兵,王 强,毛福林. 木香的药效学研究[J]. 中国药科大学学报, 2001, 32(2): 146-148.
- [5] 吴永芹,赵新静,阎道辉. HPLC 法测定复方黄连素片中木香烃内酯和去氢木香内酯的含量[J]. 齐鲁药事, 2009, 28(10): 596-598.
- [6] 黄 雯,李 明,林忠泽. HPLC 测定胃肠康胶囊中芍药苷、木香烃内酯、去氢木香内酯、橙皮苷及升麻苷的含量[J]. 中成药, 2008, 30(1): 70-73.
- [7] 刘云华,黄志芳,陈 燕. RP-HPLC 测定智托洁白丸中木香烃内酯的含量[J]. 中成药, 2008, 30(9): 28-29.
- [8] 温 辉. RP-HPLC 法测定胃痛七味散中木香烃内酯和去氢木香内酯的含量[J]. 中国药房, 2010, 20(35): 3333-3334.
- [9] 孙全明,朱朝德,李春雨. HPLC 测定木香分气丸中 5 种成分的含量[J]. 中成药, 2008, 30(1): 74-77.
- [10] 刘迎春,王绍宁,张 莹. RP-HPLC 法测定六味木香胶囊中木香烃内酯含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2007, 24(4): 229-231.
- [11] 王绪颖,贾晓斌,陈 彦. HPLC 法测定痛经宝颗粒中阿魏酸、肉桂酸、桂皮醛、木香烃内酯和去氢木香内酯[J]. 中草药, 2010, 41(10): 1643-1645.
- [12] 刘俊红,李棣华,伍孝先. 提取木香中木香烃内酯及去氢木香内酯影响因素的初步研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20

- (12): 3013-3014. 香桉内酯的含量[J]. 药物分析杂志, 2007, 27(12): 1962-1964.
- [13] 栾雨. HPLC 法测定玉簪清咽十五味丸中木香桉内酯和去氢木香桉内酯的含量[J]. 中国药师, 2009, 12(11): 1563-1565. [15] 宋粉云, 梁从庆, 毋福海. 拈痛丸中木香桉内酯与去氢木香内酯含量的 HPLC 法测定[J]. 中药材, 2007, 30(8): 1032-1033.
- [14] 星玉秀, 许传梅, 皮立. RP-HPLC 测定十八味降香丸中木

少腹逐瘀汤中 7 种有效成分的 HPLC-PDA 分析与评价

崔文霞^{1,2}, 束艳², 宿树兰^{2*}, 邬璟¹, 段金廛^{2*}, 唐于平²

(1. 江苏大学药学院, 江苏 镇江 212013; 2. 南京中医药大学 江苏省方剂研究重点实验室, 江苏 南京 210046)

摘要: 目的 分析评价少腹逐瘀汤(当归、赤芍、川芎、五灵脂、蒲黄、小茴香、干姜、肉桂、延胡索、没药)不同前处理方法对有效成分分析的影响, 建立 HPLC-PDA 法同时测定少腹逐瘀汤中 7 种成分的定量测定方法。方法 Dikma Diamonsil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm 5 μm) 柱以乙腈-0.05% 乙酸水溶液为流动相进行梯度洗脱, 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 °C; 检测波长 230, 350, 270, 320 nm。结果 测定的 7 个成分即芍药苷、咖啡酸、阿魏酸、没食子酸、香草酸、异鼠李素-3-O-新橙皮苷、香蒲新苷, 在各自质量浓度范围内线性关系良好($r \geq 0.9994$); 平均回收率为 92.2% ~ 105.8%, RSD 为 1.69% ~ 3.65%。结论 建立的 HPLC 分析方法简单可靠, 可操作性好, 为少腹逐瘀汤的质量控制提供了简便可行的方法。

关键词: 少腹逐瘀汤; 有效成分; HPLC-PDA 分析

中图分类号: R927.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2011)09-1538-05

HPLC-PDA analysis of seven effective components in Shaofu Zhuyu Decoction

CUI Wen-xia^{1,2}, SHU Yan², SU Shu-lan^{2*}, WU Jing¹, DUAN Jin-ao^{2*}, TANG Yu-ping²

(1. School of Pharmacy, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China; 2. Jiangsu Key Laboratory for TCM Formulae Research, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

ABSTRACT: **AIM** To analyze the effect of different pretreatment methods on the effective components in Shaofu Zhuyu Decoction(*Angelicae sinensis Radix*, *Paeoniae Radix rubra*, *Chuanxiong Rhizoma*, *Troglodytes seu Pteromydis Excrementum*, *Typhae Pollen*, *Foeniculi Fructus*, *Zingiberis Rhizoma*, *Cinnamomi Cortex*, *Corydalis Rhizoma*, *Myrrha*), and establish an HPLC-PDA method for simultaneous determination of seven components. **METHODS**

The analysis was carried out on a Dikma Diamonsil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column with acetonitrile-0.05% acetic acid solution as mobile phase for gradient elution. The flow rate was 1.0 mL/min, the column temperature was maintained at 30 °C; and the detection wavelength was set at 230, 350, 270, and 320 nm, respectively. **RESULTS** The seven compounds in their respective peak areas had good linearity($r \geq 0.9994$) and the average recoveries were 92.2% - 105.8%, RSD was within 1.69% - 3.65%. **CONCLUSION** This method is simple, reliable, easy to operate, and can be used for the quality control of Shaofu Zhuyu Decoction.

KEY WORDS: Shaofu Zhuyu Decoction(SFZYD); effective components; HPLC-PDA analysis

收稿日期: 2011-04-07

基金项目: 江苏省高校自然科学基金重大基础研究资助项目(06KJA36022); 江苏省中医药管理局资助项目(LB09016); 南京中医药大学青年自然科学基金资助项目(09XZR15); 江苏省方剂高新技术研究重点实验室建设项目资助(BM2010576)

作者简介: 崔文霞(1986—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药及方剂物质基础。E-mail: lycwx197@163.com

* 通信作者: 段金廛(1956—), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向: 方剂效应物质基础及中药资源化学。Tel: (025) 85811116, E-mail: dja@njutcm.edu.cn

宿树兰(1974—), 女, 副教授, 研究方向: 方剂效应物质基础研究及中药资源化学。E-mail: sushulan@njutcm.edu.cn