

HPLC法同时测定乳腺康注射液中莪术油的3种成分含量

张清波^{1,2*}, 张福明², 曹文静³, 笔雪艳^{1#}(1.黑龙江省食品药品检验检测所, 哈尔滨 150088; 2.黑龙江中医药大学药学院, 哈尔滨 150040; 3.鹤岗市人民医院草药局, 黑龙江 鹤岗 154100)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)15-2150-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.15.45

摘要 目的:建立同时测定乳腺康注射液中莪术油的莪术二酮、吉马酮、呋喃二烯含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Zorbax SB-C₁₈, 流动相为乙腈-水(梯度洗脱), 流速为 1.0 ml/min, 检测波长为 216 nm, 柱温为 30 ℃, 进样量为 10 μl。结果:莪术二酮、吉马酮、呋喃二烯的检测质量浓度线性范围分别为 60~480、40~320、40~320 μg/ml(r 均为 0.999 0);精密性、稳定性、重复性试验的 RSD < 2.0%;莪术二酮、吉马酮、呋喃二烯的加样回收率分别为 95.21%~99.89%、102.33%~104.89%、97.38%~99.06%, RSD 分别为 1.6%、1.0%、0.7% ($n=6$)。结论:该方法操作简便、结果准确,可用于同时测定乳腺康注射液中莪术油的莪术二酮、吉马酮、呋喃二烯含量。

关键词 乳腺康注射液;莪术油;莪术二酮;吉马酮;呋喃二烯;含量测定

Simultaneous Determination of the Three Ingredients of Zedoray Turmeric Oil in Ruxiankang Injection by HPLC

ZHANG Qingbo^{1, 2}, ZHANG Fuming², CAO Wenjing³, BI Xueyan¹ (1. Heilongjiang Institute for Food and Drug Control, Harbin 150088, China; 2. School of Pharmacy, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China; 3. Herbal Bureau, Hegang People's Hospital, Heilongjiang Hegang 154100, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the simultaneous determination of curdione, germacrone and furanodiene of zedoray turmeric oil in Ruxiankang injection. METHODS: HPLC was performed on the column of Zorbax SB-C₁₈ with mobile phase of acetonitrile-water (gradient elution) at a flow rate of 1.0 ml/min, detection wavelength was 216 nm, column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear range was 60-480 μg/ml for curdione ($r=0.999 0$), 40-320 μg/ml for germacrone ($r=0.999 0$) and 40-320 μg/ml ($r=0.999 0$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2.0%; recoveries were 95.21%-99.89% (RSD=1.6%, $n=6$), 102.33%-104.89% (RSD=1.0%, $n=6$) and 97.38%-99.06% (RSD=0.7%, $n=6$), respectively. CONCLUSIONS: The method is simple and accurate, and can be used for simultaneous contents determination of curdione, germacrone and furanodiene of zedoray turmeric oil in Ruxiankang injection.

KEYWORDS Ruxiankang injection; Zedoray turmeric oil; Curdione; Germacrone; Furanodiene; Content determination

乳腺康注射液是由丹参、莪术、鸡血藤、地龙、瓜蒌、拳参等6味药材组成的复方制剂,可用于治疗乳腺增生等症。其质量标准收载于《国家中成药标准汇编外科妇科分册》(2012年版),标准编号为WS-10379(2D-0379)-2002。现行标准中仅包括莪术以及丹参的薄层鉴别、丹参中原儿茶醛的含量测定,难以实现乳腺康注射液的整体质量控制。莪术为姜科植物蓬莪 *Curcuma phaeocaulis* Val、广西莪 *C. Kwangsiensis* S. G. Lee et C. F. Liang 或温郁金(又称“温莪术”^[1]) *C. wenyujun* Y. H. Chen et C. Ling 的干燥根茎。莪术性温,味辛、苦,具有行气破血、消积止痛的功效^[2],常用于癥瘕痞块、瘀血闭经、胸痹心痛、食积胀痛等证。其主要成分包括挥发油^[3](简称莪术油)和姜黄素^[4]两大类,其中莪术油在莪术中的含量达1%~2.5%^[5],具有抗肿瘤、抗炎、增强免疫力等多种功效^[6-7],且现有文献报道^[8-10]中有关莪术的研究主要集中在莪术油,但在乳腺康注射

液中尚未有研究。另外,莪术主要产于四川、广西、福建、浙江等地,这就造成药物成分的区别和含量的不同^[11]。因此,本试验采用高效液相色谱(HPLC)法同时测定莪术油中莪术二酮、吉马酮、呋喃二烯3种主要倍半萜类成分的含量,为全面控制乳腺康注射液的质量提供参考。

1 材料

1.1 仪器

1100型HPLC仪,包括四元梯度泵、G1313A型自动进样器、G1316A型柱温箱、G1315A型紫外检测器(美国Agilent公司);CP225D型十万分之一电子天平(德国Sartorius公司)。

1.2 药品与试剂

乳腺康注射液(黑龙江乌苏里江佳大制药有限公司,批号:1212001、1211003、1211001、1209001、1204002、1211002、1204001、1204003,规格:2 ml/支);莪术二酮对照品(批号:111800-201001,纯度:99.2%)、吉马酮对照品(批号:111665-200902,纯度:98.8%)、呋喃二烯对照品(批号:111824-201001,纯度:99.8%)均购自中国食品药品检定研究院;乙腈为色谱纯,甲醇为分析纯,水为纯化水。

* 主任药师,硕士。研究方向:中药质量标准化。E-mail: qingbo9118@sina.com

通信作者:主任药师,博士。研究方向:中药质量标准化。电话:0451-87537511。E-mail: hljbixueyan@sina.cn

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Zorbax SB-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)-水(B), 梯度洗脱(洗脱程序见表1); 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 216 nm; 柱温: 30℃; 进样量: 10 μl。

表1 梯度洗脱程序

Tab 1 Gradient elution procedure

时间, min	A, %	B, %
0	60	30
20	95	5
35	95	5

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 精密称取莪术二酮对照品、吉马酮对照品、呋喃二烯对照品各适量, 分别置于25 ml量瓶中, 加甲醇制成每1 ml含莪术二酮600 μg、吉马酮400 μg、呋喃二烯400 μg的单一对照品贮备液。取上述单一对照品贮备液各适量, 置于同一10 ml量瓶中, 加甲醇制成每1 ml含莪术二酮120 μg、吉马酮40 μg、呋喃二烯40 μg的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取样品5支, 置于50 ml量瓶中混匀, 精密量取5 ml, 置于10 ml量瓶中, 加甲醇定容, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.3 阴性对照溶液 按乳腺康注射液的配方比例和处方工艺制备不含莪术油的阴性样品, 按“2.2.2”项下供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液, 即得。

2.3 系统适用性试验

精密量取“2.2”项下混合对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各适量, 按“2.1”项下色谱条件进样均能达到基线分离, 分离度>1.5, 理论板数以吉马酮计均≥5 000。结果表明, 其他成分对测定无干扰。色谱见图1。

2.4 线性关系考察

分别精密吸取“2.2.1”项下的单一对照品贮备液1、2、4、6、8 ml, 分别置于10 ml量瓶中, 加甲醇溶解并定容, 摇匀, 制成系列单一对照品溶液。精密吸取上述系列单一对照品溶液各适量, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。以质量浓度(x, μg/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归, 得回归方程与线性范围, 详见表2。

2.5 检测限与定量限考察

取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量等倍逐步稀释, 按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次, 记录峰面积。当信噪比为3:1时, 得检测限(LOD); 当信噪比为10:1时, 得定量限(LOQ), 详见表3。

2.6 精密度试验

精密吸取“2.2.1”项下混合对照品溶液适量, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果, 莪术二酮、吉马酮、呋喃二烯峰面积的RSD分别为0.4%、0.4%、1.6% (n=6), 表明仪器精密度良好。

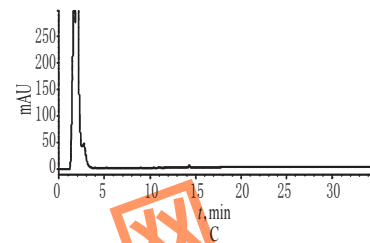
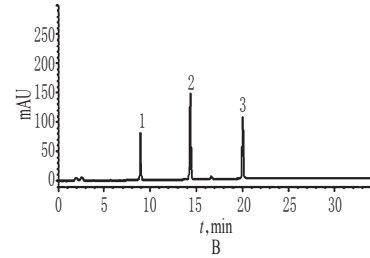
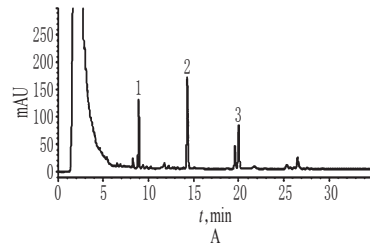


图1 高效液相色谱图

A.混合对照品; B.供试品; C.阴性对照; 1.莪术二酮; 2.吉马酮; 3.呋喃二烯

Fig 1 HPLC chromatograms

A.mixed reference substance; B.test sample; C.negative control; 1.curcuminone; 2.germacrone; 3.furanodiene

表2 回归方程与线性范围

Tab 2 Regression equations and linear ranges

待测成分	回归方程	线性范围, μg/ml	r
莪术二酮	$y=0.8718x-12.009$	60~480	0.999 0
吉马酮	$y=3.4344x-7.4553$	40~320	0.999 0
呋喃二烯	$y=2.8025x-4.4556$	40~320	0.999 0

表3 检测限与定量限考察结果

Tab 3 Determination results of detection limit and quantitation limit

待测成分	LOD, μg/ml	LOQ, μg/ml
莪术二酮	1.03	3.08
吉马酮	0.65	1.35
呋喃二烯	0.58	1.18

2.7 稳定性试验

精密吸取同一份供试品溶液(批号: 1211003)适量, 分别于放置0、2、6、10、14、18、22、28 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果, 莪术二酮、吉马酮、呋喃二烯峰面积的RSD分别为1.8%、0.7%、1.2% (n=8), 表明供试品溶液在28 h内稳定性良好。

2.8 重复性试验

取同一批样品(批号: 1211003)适量, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液6份, 按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果, 莪术二酮、吉马酮、呋喃二烯峰面积的RSD分别为1.6%、1.2%、2.4% (n=6), 表明本方法重复性良好。

2.9 加样回收率试验

量取已知含量的样品(批号:1211003)适量,共6份,分别加入“2.2.1”项下单一对照品贮备液各适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表4。

表4 加样回收率试验结果($n=6$)

Tab 4 Recovery of recovery test($n=6$)

待测成分	取样量, ml	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
莪术二酮	2.5	0.568 2	0.459 5	1.027 2	99.89	97.4	1.6
	2.5	0.568 2	0.459 5	1.014 9	97.21		
	2.5	0.568 2	0.459 5	1.015 1	97.26		
	2.5	0.568 2	0.459 5	1.014 0	97.02		
	2.5	0.568 2	0.459 5	1.005 7	95.21		
	2.5	0.568 2	0.459 5	1.018 0	97.89		
吉马酮	2.5	0.251 9	0.198 2	0.455 9	102.93	103.6	1.0
	2.5	0.251 9	0.198 2	0.455 8	102.88		
	2.5	0.251 9	0.198 2	0.458 1	104.04		
	2.5	0.251 9	0.198 2	0.459 4	104.69		
	2.5	0.251 9	0.198 2	0.454 7	102.33		
	2.5	0.251 9	0.198 2	0.459 8	104.89		
呋喃二烯	2.5	0.147 3	0.161 4	0.304 5	97.38	98.2	0.7
	2.5	0.147 3	0.161 4	0.304 8	97.59		
	2.5	0.147 3	0.161 4	0.305 5	98.01		
	2.5	0.147 3	0.161 4	0.306 2	98.43		
	2.5	0.147 3	0.161 4	0.307 2	99.06		
	2.5	0.147 3	0.161 4	0.306 5	98.64		

2.10 样品含量测定

量取8批样品各适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下方法进样测定,记录峰面积并计算样品含量,结果见表5。

表5 样品含量测定结果($n=3$, mg/ml)

Tab 5 Results of content determination of sample($n=3$, mg/ml)

样品批号	莪术二酮	吉马酮	呋喃二烯
1212001	0.23	0.11	0.098
1211003	0.23	0.10	0.059
1211001	0.23	0.11	0.100
1209001	0.22	0.09	0.036
1204002	0.19	0.09	0.036
1211002	0.18	0.10	0.057
1204001	0.24	0.10	0.066
1204003	0.24	0.09	0.034

3 讨论

3.1 色谱柱的选择

笔者比较了 Waters Symmetry Shield TM-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Agilent Zorbax SB-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)和 YMC-Pack ODS-A(250 mm×4.6 mm, 5 μm)3种色谱柱,分别在同一色谱条件下进行分离,结果3种色谱柱的峰形、分离度、理论板数均可达到满意的效果。由于 Agilent 色谱柱较

为常用,所以本试验选择 Agilent Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱进行检测分离。

3.2 检测波长的选择

倍半萜类及其衍生物大多数都是末端吸收,综合考虑莪术二酮、吉马酮、呋喃二烯3种被测成分的吸收系数、干扰峰以及检测器的灵敏度^[12-13],对210、216 nm波长分别进行了考察,并参考2015年版《中国药典》(一部)中莪术油含量测定项下的条件,最终确定216 nm为本试验的检测波长。

综上所述,本方法操作简便、结果准确,可用于同时测定乳腺康注射液中莪术油的莪术二酮、吉马酮、呋喃二烯含量。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版. 北京:中国医药科技出版社, 2015:274.
- [2] 满位. 莪术油药理研究及临床应用进展[J]. 时珍国医国药, 2000, 11(7):663.
- [3] 尹国平, 张清哲, 安月伟, 等. 温郁金化学成分及药理活性研究进展[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(22):3354.
- [4] 王琰, 胡文言, 王慕邹. HPLC法测定中药莪术中3种姜黄素的含量[J]. 药学学报, 1999, 34(6):467.
- [5] 李国栋, 许付, 沈爱军. 莪术油的研究进展[J]. 中国药学杂志, 2002, 37(11):807.
- [6] 吴万垠, 徐凯, 刘伟胜, 等. 莪术油微球经肝动脉灌注栓塞治疗原发性肝癌[J]. 上海中医药杂志, 2004, 38(4):3.
- [7] 薛周山, 张松成. 莪术油注射液治疗婴幼儿病毒性肺炎疗效观察[J]. 河南中医学报, 2007, 128(22):60.
- [8] 彭炳先, 陈受惠. HPLC测定不同产地莪术中三种有效成分的含量[J]. 中国药学杂志, 2009, 44(22):1742.
- [9] 何欢, 马双成, 田颂九, 等. HPLC测定莪术油及其注射液中6种成分的含量[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(6):461.
- [10] 张鹏, 祝明, 唐登峰, 等. HPLC同时测定莪术油中3种倍半萜类成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(11):1825.
- [11] 李勇, 孙秀燕, 林翠英, 等. 3个品种莪术挥发油化学成分的比较[J]. 中草药, 2005, 36(12):1786.
- [12] 王菊, 陆兔林, 等. 高效液相色谱法同时测定不同产地莪术饮片中5种倍半萜类成分的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2012, 32(24):1954.
- [13] 华彬, 毛春芹, 陆兔林. 莪术饮片质量标准研究[J]. 中国药业, 2012, 21(14):28.

(收稿日期:2015-10-14 修回日期:2016-03-12)

(编辑:刘柳)