

薄层扫描法测定祛白片中补骨脂素和异补骨脂素的含量

许凤鸣 朱 元 王兆全 郑祖国* (安徽省医学科学研究所 合肥 230061)

摘要 采用双波长薄层扫描法测定了祛白片中补骨脂素和异补骨脂素的含量。补骨脂素回收率平均值为 98.96%, 变异系数为 2.86% ($n=5$); 异补骨脂素回收率平均值为 98.38%, 变异系数为 2.79% ($n=5$)。本法简便、快速、结果可靠。

关键词 祛白片 补骨脂素 异补骨脂素 薄层色谱扫描法

Determination of Proralen and Isoproralen in Qubai Tablets by TLC-Scanning

Xu Fengming, Zhu Yuan, Wang Zhaoquan, Zheng Zuguo

(Anhui Institute of Medical Sciences, Hefei, 230061)

Abstract: The proralen and isoproralen in Qubai tablets were quantitatively determined by double-wavelength TLC-scanning. The average recovery of proralen was found to be 98.96% and the relative standard deviation 2.86% ($n=5$); and the average recovery of isoproralen was 98.38%, with a relative standard deviation of 2.79% ($n=5$). The method was simple and rapid, with a reliable result.

Key words: Qubai tablets, proralen, isoproralen, TLC-scanning

祛白片为中药复方制剂, 主治白癜风。处方由何首乌、补骨脂、白术、茯苓、苍术、重楼、

墨旱莲、麦冬、党参、黄芪、紫草、白蒺藜、香附、丹参、防风 and 甘草组成。方中补骨脂为君药, 据报道: 补骨脂中含有补骨脂素 (pro-

ralen)、异补骨脂素(isoproralen)、补骨脂定和异补骨脂定等香豆素类成分^[1]。其中补骨脂素和异补骨脂素具有光敏感作用,能促进皮肤色素新生,是治疗白癜风的主要有效成分^[2]。故本实验采用双波长薄层扫描法,通过测定制剂中补骨脂素和异补骨脂素的含量来控制产品质量。该法具有操作简便、结果可靠等优点。

1 仪器与试药

CS-930 型薄层色谱扫描仪(日本岛津);定量点样毛细管(美国 Drummond 公司);高效硅胶薄层板(山东烟台化工研究所);补骨脂素及异补骨脂素对照品(中国药品生物制品检定所);祛白片(合肥中药厂);氯仿、无水甲醇等试剂均为分析纯。

2 实验条件

2.1 薄层色谱条件 展开剂为苯:乙酸乙酯(19:1)。层析方法:上行展开,取出晾干后,置紫外(365nm)下观察,斑点呈兰色荧光。

2.2 薄层扫描条件 补骨脂素及异补骨脂素薄层色谱斑点经薄层光谱扫描,两者分别在 247nm 和 245nm 处有最大吸收峰,在 400nm 处无吸收,故测定波长:补骨脂素 $\lambda_s = 247\text{nm}$, 异补骨脂素 $\lambda_s = 245\text{nm}$;参比波长 $\lambda_R = 400\text{nm}$ 。SX=3, Slit 0.4×0.4mm, 双波长反射式锯齿形扫描。

3 方法与结果

3.1 对照品溶液的制备 精密称取补骨脂素和异补骨脂素对照品,加无水甲醇制成每 ml 各含 0.5mg 的溶液,作为对照品溶液。

3.2 标准曲线的制备 精密吸取上述对照品溶液 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 μl 分别点于同一硅胶薄层板上,按拟定条件展开,取出晾干后,测定各斑点峰面积积分值。以点样量为横坐标,峰面积积分值为纵坐标,绘制标准曲线。求得回归方程:补骨脂素 $Y = 45354x + 13750$ ($r = 0.9982, n = 6$); 异补骨脂素 $Y = 67924x + 13163$ ($r = 0.9992, n = 6$)。实验表

明补骨脂素和异补骨脂素在所试浓度范围(0.5~3.0 μg)内,与峰面积呈良好线性关系。

3.3 样品溶液的制备 准确称取祛白片约 20g,研成细粉,置索氏提取器中,加氯仿适量,提取 12h。提取液回收溶剂,用氯仿定容至 5ml,备用。

3.4 稳定性试验 取样品液一定量点于薄层板上,展开、取出晾干后,立即测定和在室温下每隔 30min 测定 1 次。结果表明补骨脂素和异补骨脂素峰面积值在 2.5h 内稳定。

3.5 精密度试验 吸取上述对照品溶液 2 μl , 分别点于同一硅胶薄层板上,共点样 6 个点。展开、取出晾干后,测得补骨脂素峰面积值的变异系数 $RSD = 1.95\%$ ($n = 6$); 异补骨脂素峰面积值的 $RSD = 1.61\%$ ($n = 6$)。又分别点等量的对照品溶液于 5 块薄层板上,展开、取出晾干后,测得被骨脂素峰面积值 $RSD = 2.24\%$ ($n = 5$); 异补骨脂素峰面积值 $RSD = 2.16\%$ ($n = 5$),说明本法精密度较好。

3.6 重现性试验 取同批号样品 5 份,按含量测定项下的方法测定样品中补骨脂素和异补骨脂素的含量,测得补骨脂素 $RSD = 2.18\%$ ($n = 5$); 异补骨脂素 $RSD = 2.23\%$ ($n = 5$),说明本法重现性较好,结果见表 1。

表 1 重现性试验结果

点样量(μl)	补骨脂素测得值(μg)	异补骨脂素测得值(μg)
6	1.631	1.615
6	1.566	1.554
6	1.583	1.576
6	1.602	1.601
6	1.540	1.528
$RSD(n=5)$	2.18%	2.23%

3.7 空白对照试验 按处方比例,取补骨脂以外各药制成片剂作为空白对照品,按含量测定项下的方法扫描测定,结果表明空白对照品在检测波长处无吸收,可见其它药味对本测定无干扰。

3.8 加样回收率试验 称取已知含量祛白片 5 份,每份 20g,准确加入补骨脂素及异补

骨脂素对照品各适量,按样品液制备和测定方法测定补骨脂素和异补骨脂素的含量。测定结果见表2、3。

表2 补骨脂素加样回收率测定结果

样品已知含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1.320	0.852	2.133	95.4		
1.320	1.028	2.322	97.5		
1.320	0.781	2.088	98.3	98.96	2.86
1.320	0.740	2.069	101.2		
1.320	0.916	2.258	102.4		

表3 异补骨脂素加样回收率测定结果

样品已知含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1.260	1.014	2.224	95.1		
1.260	0.820	2.049	96.2		
1.260	0.753	2.002	98.5	98.38	2.79
1.260	0.946	2.213	100.7		
1.260	0.785	2.056	101.4		

表4 样品中补骨脂素和异补骨脂素含量(n=3)

批号	补骨脂素含量%(平均)	异补骨脂素含量%(平均)
910601	0.0066	0.0070
910602	0.0059	0.0050
910603	0.0069	0.0057
910604	0.0064	0.0063

3.9 样品含量测定 吸取上述样品液 6 μ l,

对照品溶液 1 μ l、4 μ l 分别交叉点于同一薄层板上,依法展开、取出晾干后,进行色谱扫描测定。按外标两点法计算样品中补骨脂素和异补骨脂素的含量,结果见表4。

4 讨论

4.1 采用外标两点法定量,需预先测出样品中补骨脂素及异补骨脂素的大概含量,以使点样量落在线性范围内。另外,对照品溶液与样品溶液应交叉点于同一薄层板上,这样可以减少由于薄层板厚薄可能不均匀而产生的误差。

4.2 本实验样品液制备步骤简单,薄层分离效果好,斑点清晰,并且由缺补骨脂药材制成的空白对照品在 245nm 及 247nm 处无紫外吸收,表明本测定结果可靠。

参考文献

- 1 吴焕. 补骨脂的化学成分. 中草药通讯, 1978, 9(10): 32
- 2 陶秀兰. 制斑素注射液的制备工艺. 中草药通讯, 1978, 9(4): 21

(收稿: 1997-08-12)