

薄层扫描法测定速效生发喷雾剂中补骨脂有效成分的含量

芦喜珍, 彭莹, 高涛
(湖北中医学院, 湖北 武汉 430061)

摘要: 目的: 测定速效生发喷雾剂中补骨脂素与异补骨脂素的含量。方法: 样品经氧化铝柱处理后点于硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上, 以正己烷-醋酸乙酯-无水乙醇(48:12:0.1)为展开剂, 检测波长 $\lambda = 300\text{nm}$, $\lambda_R = 365\text{nm}$ 。结果: 平均回收率补骨脂为 96.9%, RSD= 1.2%; 异补骨脂为 97.7%, RSD= 1.6%。结论: 本方法灵敏、准确、专属性好, 可作为该制剂的含量测定及质量控制。

关键词: 薄层扫描法; 补骨脂素; 异补骨脂素; 含量测定

中图分类号: R284.2 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2005)01-0014-02

速效生发喷雾剂是根据我院中医教授王俊槐主任医师的临床经验方研制而成的外用剂型。全方由补骨脂、制首乌、当归、丹参等多味中药组成。临床观察具有刺激头皮, 促进毛囊生长, 对斑秃、普秃、脂溢性脱发均有疗效。方中补骨脂外用治秃发^[1], 在方中起重要作用。补骨脂主要成分为补骨脂素、异补骨脂素, 含量高, 易控制, 可选为定量指标, 经实验对比^[2], 以薄层扫描法进行测定。结果准确可靠, 专属性强, 可作为该制剂的质控方法。

1 仪器与试剂

CS-9000 型双波长薄层扫描仪(日本岛津); 微量

进样器(上海医用激光仪器厂); 939 型制板器(重庆); 硅胶 GF₂₅₄(青岛海洋化工厂); 补骨脂素、异补骨脂素对照品(购自中国药品生物制品检定所); 速效生发喷雾剂(自制); 其它试剂均为分析纯。

2 试验方法与结果

2.1 对照品溶液的制备 精密称取补骨脂素、异补骨脂素对照品适量, 加乙酸乙酯分别溶解, 稀释并制成每 1mL 含 1mg 的溶液, 即得。

2.2 供试品溶液的制备 精密吸取速效生发喷雾剂 10.0mL 置 30mL 蒸发皿中, 水浴挥去乙醇, 用约 1.0g 中性氧化铝拌匀, 于 105℃烘 1.5h, 加入预先装好的中性氧化铝柱(100~200 目, 120℃活化 1h, 10g, 柱径 1.8cm), 用醋酸乙酯 70mL 洗脱, 洗脱速度 1.0mL/min, 合并洗脱液, 挥干, 残渣加醋酸乙酯溶

收稿日期: 2004-03-09

通讯作者: 芦喜珍, Tel: (027) 68889105, E-mail: zhcht0203@163.

解, 转移到 2mL 量瓶中并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 薄层层析及扫描条件的选择

2.3.1 薄层板的制备 取硅胶 GF₂₅₄ 以 0.4% 羧甲基纤维素钠, 制成 0.5mm 厚的薄层板, 110℃ 活化 1h, 备用。

2.3.2 点样及展开 精密吸取对照品溶液 2μL 和 4μL, 供试品溶液 3μL, 阴性对照溶液 3μL (按处方比例配制的含补骨脂药材同法制成的供试品溶液), 分别交叉点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上, 以正己烷-醋酸乙酯-无水乙醇 (48: 12: 0.1) 为展开剂, 饱和 20min, 上行展开 15cm 取出, 晾干。

2.3.3 扫描波长的选择及扫描条件 对补骨脂素、异补骨脂素及供试品相对应位置上的薄层色谱斑点置 200~ 370nm 之间紫外扫描, 光谱扫描图相同, 在 300nm 波长处有最大吸收, 在 365nm 处几乎无吸收, 同时, 阴性样品试液与补骨脂素和异补骨脂素相对应处无干扰。故选定 λ₁ = 300nm、λ₂ = 365nm; 扫描方式: 双波长反射法锯齿扫描; 狭缝: 0.4 × 0.4mm; 线性化参数 SX = 3; 灵敏度中等; 背景校正: ON; ΔY = 0.1mm。

2.4 线性关系的考察 精密吸取补骨脂素和异补骨脂素对照品溶液 (1mg/mL) 1.2.3.4.5.6μL 分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上, 依法展开, 晾干, 扫描测定各斑点吸收度积分值, 以点样量 (μg) 为横坐标, 斑点面积积分值 (A) 为纵坐标, 进行回归分析, 补骨脂素得回归方程 Y = 3962.97 + 19081.76X, r = 0.9996; 异补骨脂素得回归方程 Y = 13271.64 + 19805.90X, r = 0.9995。结果表明补骨脂素和异补骨脂素在 1~6μg 之间各呈良好线性关系。

2.5 稳定性考察 对展开后的同一斑点分别以 0、0.5、1.0、1.5、2.0h 进行扫描测定。结果表明补骨脂素在 1h 内测定结果稳定, RSD = 3.4%; 异补骨脂素在 2h 内测定结果稳定, RSD = 3.2%。

2.6 回收率试验 精密吸取已知含量的样品溶液 5mL, 共 4 份, 其中一份作空白样品, 另三份分别加入定量的补骨脂素和异补骨脂素对照品, 按供试品溶液制备方法处理, 按上述方法展开, 扫描测定, 用外标两点法计算。补骨脂素平均回收率为 96.91%, RSD = 1.2%; 异补骨脂素平均回收率为 97.72%, RSD = 1.6%。结果详见表 1, 表 2。

2.7 样品含量测定 精密吸取供试品 3μL, 对照品

液 2μL 和 4μL, 分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上, 展开, 晾干, 扫描测定, 结果见表 3。

表 1 补骨脂素加样回收率测定结果

取样量 (mL)	样品含量 (mg)	对照品加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
5	0.414	1.0	1.3846	97.13		
5	0.414	1.2	1.5887	98.24	96.91	1.2
5	0.414	1.4	1.7468	95.31		

表 2 异补骨脂素加样回收率测定结果

取样量 (mL)	样品含量 (mg)	对照品加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
5	0.429	1.0	1.3894	96.64		
5	0.429	1.2	1.6047	98.40	97.72	1.6
5	0.429	1.4	1.8011	98.11		

表 3 样品含量测定结果 (n = 4)

批号	补骨脂素含量 (mg/mL)	RSD (%)	异补骨脂素含量 (mg/mL)	RSD (%)
002003	0.0833	2.8	0.0849	1.5
002013	0.0821	2.3	0.0846	1.9
002023	0.0823	1.4	0.0852	2.0

3 讨论

速效生发喷雾剂为乙醇提取药液, 所含脂溶性成分较多, 根据补骨脂素和异补骨脂素的理化性质, 采用氧化铝小预柱处理, 用中等极性的醋酸乙酯进行洗脱, 去掉其它脂溶性成分。洗脱液经过薄层试验观察, 加入 70mL 醋酸乙酯洗脱后, 再加入 5~10mL 醋酸乙酯的洗脱液中待测斑点消失。洗脱速度是很重要的因素, 对 (1) 2~4mL/min; (2) 0.5~1.0mL/min 两种情况进行了比较, 结果表明 (2) 法回收率高于 (1) 法。

反复试验结果表明, 以正己烷-醋酸乙酯-无水乙醇 (48: 12: 0.1) 为展开剂, 使补骨脂素和异补骨脂素得到良好的分离效果, 斑点圆整, 无拖尾现象, R_f 值适宜。

参考文献:

[1] 国家医药管理局中草药情报中心站编. 药物有效成分手册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986. 58.
 [2] 蓝和楼, 乔宝安, 吉金燕, 等. 薄层扫描法测定补骨脂素胶囊中的补骨脂素和异补骨脂素的含量[J]. 陕西中医, 2000, 21(10): 477.