

腰疼丸中补骨脂素和异补骨脂素的含量测定

王 栋, 胡寿荣, 陈伟康

(江西省药品检验所, 江西 南昌 330046)

摘要: 研究建立 HPLC 法测定腰疼丸中补骨脂素和异补骨脂素的含量测定方法, 回归方程为: 补骨脂素 $Y = 16596384C - 9480$, $r = 0.9999$; 异补骨脂素: $Y = 16579853C + 11410$, $r = 0.9999$; 线性范围: 补骨脂素 $0.1014 \sim 0.7098 \mu\text{g}$; 异补骨脂素 $0.1038 \sim 0.7266 \mu\text{g}$ 。

关键词: 腰疼丸; 补骨脂素; 异补骨脂素

中图分类号: R284.1 **文献标识码:** B **文章编号:** 1005-9903(2004)01-0016-02

补骨脂是腰疼丸处方中的君药, 中医药理论认为它具有温肾助阳, 纳气止泻之功效。其有效成分主要有补骨脂素和异补骨脂素^[1], 因此, 采用高效液相色谱法对制剂中补骨脂素(psoralen)和异补骨脂素(isopsoralen angelicin)的含量测定方法进行了研究, 建立了腰疼丸中补骨脂素和异补骨脂素的含量测定方法。该方法操作简便、灵敏、准确, 能有效地控制制剂内在质量。

1 仪器与试剂

Waters 209 高效液相色谱仪, 包括 water 486 紫外分光检测器, 柱恒温器, 定量进样环, 江申色谱工作站; 补骨脂素(批号: 0739-9907)和异补骨脂素(批号: 0738-9907)含量测定对照品(中国药品生物制品检定所), 所用试剂均为分析纯。

1.1 色谱条件 色谱柱: Kromasil C18, 5 μ , 250mm \times 4.6mm。流动相: 甲醇-水(50:50), 检测波长: 245nm; 流速: $1\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$; 柱温: 35 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.2 对照品溶液的制备 分别精密称取减压真空干燥 24h 的补骨脂素与异补骨脂素各 5.07mg 和 5.19mg, 同置于 50ml 容量瓶中, 用甲醇溶解并定容。

再精密吸取 5ml 置 25ml 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2 供试品溶液的制备

2.1 提取时间的确定 取本品, 切碎, 取 5g, 精密称定 9 份, 置具塞的三角烧瓶中, 精密加入甲醇 100ml, 称定重量, 分别超声处理 45、60、90min, 取出, 放冷, 称定重量, 用甲醇补足重量, 摇匀。滤过, 取续滤液 5ml 置 10ml 容量瓶, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 滤膜过滤, 取滤液 20 μl 进样, 测定不同提取时间的样品含量, 结果提取 60min 的样品与提取 90min 的样品所测含量结果基本一致, 故确定样品提取时间定为 90min。结果见表 1。

表 1 样品不同提取时间的测定结果($n = 3$)

提取时间(min)	补骨脂含量(mg/g)	异补骨脂含量(mg/g)
30	0.652	0.578
60	0.795	0.684
90	0.787	0.688

2.2 供试品溶液的制备 取腰疼丸切碎, 精密称取 5g, 置具塞三角烧瓶中, 精密加入甲醇 100ml 称重, 超声处理 90min, 放冷, 用甲醇补足重量。摇匀, 过滤, 精密吸取续滤液 5ml, 置 10ml 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 滤过, 即得。

3 色谱条件选择

3.1 测定波长确定 分别精密称取补骨脂素与异补骨脂素对照品适量,用流动相稀释成 0.1mg/ml 的对照品溶液进行紫外扫描,补骨脂素在 245nm 处,异补骨脂素在 247nm 处有最大吸收。最后确定测定波长为 245nm。

3.2 线性关系考察 精密吸取上述补骨脂素和异补骨脂素混合对照品溶液 25ml,置 50ml 容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,再分别精密吸取 1 2 3 4、5 6、7ml 置 10ml 容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,进样 20 μ l,按上述色谱条件测定峰面积,以峰面积积分值为纵座标,对照品进样量(μ g)为横座标,绘制标准曲线,得回归方程为:

$$\text{补骨脂素: } Y = 16596384C - 9480 \quad r = 0.9999。$$

$$\text{异补骨脂素: } Y = 16579853C + 11410 \quad r = 0.9999。$$

线性范围分别为:补骨脂素 0.1014~ 0.7098 μ g,异补骨脂素 0.1038~ 0.7266 μ g。

3.3 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液 20 μ l,按上述色谱条件,重复进样 6 次,测定峰面积,补骨脂素 RSD 为 1.28%,异补骨脂素 RSD 为 1.71%。

3.4 稳定性试验 精密称取同一批样品 5 份,按供试品溶液的制备方法制备供试品,分别在第一天与第三天进样 20 μ l,测定其含量,结果补骨脂素和异补骨脂素含量没有变化。说明供试品溶液在 48h 内稳定。

表 2-1 加样回收试验结果

取样量 (g)	样品中含补骨脂素量(mg)	加入补骨脂素量(mg)	测出值 (mg)	回收率 (%)	RSD (%)
2.5078	1.605	1.485	3.085	99.60	
2.5359	1.623	1.485	3.128	101.35	
2.5484	1.631	1.485	3.104	99.19	1.81
2.5688	1.644	1.485	3.097	96.50	
2.6468	1.704	1.485	3.169	98.65	
2.6984	1.727	1.485	3.230	101.21	

表 2-2 加样回收试验结果

取样量 (g)	样品中含补骨脂素量(mg)	加入补骨脂素量(mg)	测出值 (mg)	回收率 (%)	RSD (%)
2.5078	1.397	1.334	2.718	99.02	
2.5359	1.412	1.334	2.718	97.75	
2.5484	1.419	1.334	2.757	100.30	
2.5688	1.431	1.334	2.759	99.55	1.62
2.6468	1.474	1.334	2.819	100.80	
2.6984	1.503	1.334	2.792	96.55	

3.5 重复性试验 精密称取同一批样品 5 份,按供试品溶液的制备方法制得供试品,进样 20 μ l,按外标法计算补骨脂素与异补骨脂素的含量,结果补骨脂素 RSD 为 1.77%,异补骨脂素 RSD 为 2.46%。

3.6 加样回收试验 精密吸取补骨脂素与异补骨脂素混合对照品,加入已知含量的样品中,一式 6 份,按供试品溶液制备方法制备测定样品,进样 20 μ l,按外标法,计算含量,结果见表 2-1 2-2。

3.7 样品测定 取腰疼丸三批样品,按含量测定方法测定样品,结果见表 3。

表 3 三批样品含量结果(n=2)

批次	补骨脂素量 (mg/g)	异补骨脂素量 (mg/g)	补骨脂素+ 异补骨脂素 (mg)
20010602	0.6364	0.5575	1.1939
20010901	0.7869	0.6875	1.4744
20020502	0.6421	0.5630	1.2051

4 讨论

根据补骨脂和异补骨脂的溶解性以及蜜丸的特性,分别考察了水、甲醇、乙醇、氯仿四种溶剂的提取效果。结果乙醇与氯仿均不能使样品全部分散,不利有效成分的提取。而水提取物杂质多,分离度不符合要求,故均不采用。只有甲醇能迅速分散样品,且补骨脂素与异补骨脂易溶于甲醇。所以提取溶剂选用甲醇。

参考文献:

[1] 陈玉敏,刘云.高效液相色谱法测定壮骨关节丸中补骨脂素和异补骨脂素的含量[J].药物分析杂志,1999,19(6):391-393.