

HPLC 法测定益肾壮骨合剂补骨脂中的补骨脂素和异补骨脂素的含量

王明越¹, 张淑运², 周佩卿¹, 龚玲¹, 夏蓓¹, 胡杰¹, 曹俊卿¹

(1. 首都医科大学宣武医院, 北京 100053; 2. 中国中医研究院中药研究所, 北京 100700)

摘要: 用 HPLC 色谱法, 以甲醇-水(6.2:7.0)为流动相, 295nm 为检测波长, 对益肾壮骨合剂中补骨脂素和异补骨脂素的含量进行了测定。它们的平均回收率分别为 99.49%, 99.46%; RSD 分别为 2.16%, 2.05%。该方法灵敏重现性好, 可作为此制剂质量标准控制方法。

关键词: 益肾壮骨合剂; 补骨脂素; 异补骨脂素; 高效液相色谱

中图分类号: R284.1 **文献标识码:** B **文章编号:** 1005-9903(2002)01-0012-02

益肾壮骨合剂是由北京市卫生局批准的治疗和预防骨质疏松有效的纯中药制剂, 是北京市科委科研课题的临床观察用药。它由补骨脂等数味中药组成, 其中补骨脂为君药, 具有温肾壮阳作用, 补骨脂

素和异补骨脂素都是中药补骨脂的有效成分, 而且含量较高, 故以补骨脂素和异补骨脂素为指标, 测定它们在制剂中的含量, 以此来控制产品的质量, 本试验采用高效液相色谱法^[1], 测定合剂中补骨脂素和异补骨脂素含量。

1 仪器与试药

收稿日期: 2001-04-25

日立 L-7000 系列高效色谱仪; 色谱柱: Kromasil C₁₈(250 × 4.6mm)。

甲醇为 GR、醋酸乙酯 AR(北京化工厂), 重蒸水, 中性氧化铝(100~200目)(温州东升化工厂)。补骨脂素对照品和异补骨脂素由中国药品生物制品检定所提供, 经 HPLC 测定补骨脂素(0739—9706)纯度为 98.56%, 异补骨脂素(0738—9706)纯度为 98.20%。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 Kromasil C₁₈(250 × 4.6mm); 流动相: 甲醇—水(6.2: 7.0); 检测波长: 295nm; 流速: 1ml/min; 柱温: 室温。在此条件下补骨脂素和异补骨脂素都能达到理想的分离效果(见图)。保留时间分别为 20.31min 和 23.40min, 理论板数不低于 4000。

2.2 线性关系的测定 精密称取对照品适量, 用甲醇溶解制成对照液。精密吸取补骨脂素对照液(0.05mg/ml), 异补骨脂素对照液(0.1mg/ml) 1, 2, 3, 4, 5, 6μl, 按上述色谱条件测定峰面积, 以积分值为纵坐标, 以对照品量为横坐标绘制

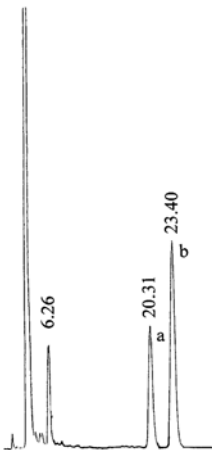


图 益肾壮骨合剂 HPLC 色谱图
a. 补骨脂素; b. 异补骨脂素

标准曲线, 测定结果表明补骨脂素 0.1~0.3ug 范围内具有良好的线性关系。计算回归方程 $Y = 48760X - 68.8$ $r = 0.9999$ 。异补骨脂素 0.2~0.6μg 范围内具有良好的线性关系, 回归方程为 $Y = 32829X + 26.6$, $r = 0.9999$ 。

2.3 精密度试验 精密吸取补骨脂素和异补骨脂素对照液适量重复进样 5 次, 高效液相测定峰面积积分值, 计算相对标准偏差。补骨脂素和异补骨脂素的 RSD 分别是 1.14% 和 1.30%。

2.4 稳定性试验观察 将配制好的供试液在室温(20℃)下放置, 48h 内测定 5 次, 高效液相测定结果显示, 补骨脂素和异补骨脂素峰面积积分值基本一致, RSD 分别为 0.75% 和 1.52%, 证明待测液中补骨脂素和异补骨脂素在 48h 内是稳定的。

2.5 回收率测定 精度吸取 5ml 合剂(990515) 5 份, 分别加入 2ml 补骨脂素对照液(0.1mg/ml); 按供试品溶液的含测定方法, 测定, 测定结果见表 1。精密吸取 2ml 合剂(990515) 5 份, 分别加入 2ml 异补骨脂素对照液(0.1mg/ml), 按供试液含量测定方法

测定, 测定结果见表 2。

2.6 样品测定 精密吸取本制剂 5.00ml, 置 50ml 分液漏斗中, 加蒸馏水 5ml, 用(10ml × 5) 醋酸乙酯萃取, 合并萃取液, 浓缩至少量转移到小蒸发皿中, 用 2g 中性氧化铝分散, 室温干燥后上 4g 中性氧化铝干柱。用 15ml 醋酸乙酯洗脱, 洗脱液浓缩至干, 用甲醇溶解, 转移至 10ml 容量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得供试液。按照已确定的高效液相方法测定制剂中补骨脂素和异补骨脂素含量, 测定结果见表 3。

表 1 补骨脂素回收率测定结果(n=5)

测出量 (mg)	合剂中含量 (mg)	添加量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.3370	0.1453	0.2000	95.85		
0.3457	0.1453	0.2000	100.20		
0.3444	0.1453	0.2000	99.55	99.49	2.16
0.3460	0.1453	0.2000	100.35		
0.3483	0.1453	0.2000	101.50		

表 2 异补骨脂素回收率测定(n=5)

测出量 (mg)	合剂中含量 (mg)	添加量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.3906	0.1924	0.2000	99.10		
0.3903	0.1924	0.2000	98.95		
0.3952	0.1924	0.2000	101.14	99.46	2.05
0.3854	0.1924	0.2000	96.50		
0.3956	0.1924	0.2000	101.60		

表 3 益肾壮骨合剂中补骨脂素和异补骨脂素总含量(n=3)

批号	补骨脂素 (mg/ml)	异补骨脂素 (mg/ml)	总量 (mg/ml)
990901	0.0574	0.1584	0.2158
990902	0.0575	0.1610	0.2185
990903	0.0582	0.1599	0.2181

测定结果显示, 三批制剂中补骨脂素和异补骨脂素的含量基本相同。总量都高于 0.13mg/ml。

3 讨论

本合剂为多味中药的复方制剂, 成分复杂, 颜色深, 杂质干扰厉害。直接测定达不到理想的分离效果, 需要净化。参照文献报导^[2], 经多次试验, 确定了用乙酸乙酯萃取, 上中性氧化铝柱, 再用乙酸己脂洗脱, 洗脱液浓缩后甲醇溶解的方法制备待测液, 效果很好。

参考文献:

[1] 谭建生, 王瑛, 刘刚, 等. 补骨脂酊中补骨脂素和异补骨脂素的高效液相色谱测定法[J]. 中国中药杂志, 1995, 20(2): 90~100.

[2] 姚三桃, 杨滨, 徐植灵. 气相色谱法测定补骨脂中的有效成分[J]. 中国中药杂志, 1996, 31(2): 394~396.