

驳骨丸中延胡索乙素含量的 HPLC 测定^{*}

★ 汤启勋 李雁玲 (暨南大学医学院第六附属医院 广东省江门市五邑中医院 江门 529000)

摘要:目的:探讨驳骨丸中延胡索乙素的含量测定方法。方法:以索氏提取法提取延胡索乙素,HPLC 法测定其含量,选用 ODS 色谱柱,以甲醇:水(65:35)为流动相,检测波长 280 nm。结果:延胡索乙素在 0.56~16.80 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好($r=0.999\ 98$),平均回收率为 99.87%, $RSD=0.32\%$ ($n=5$)。结论:HPLC 法测定驳骨丸中延胡索乙素,方法简便、灵敏、准确,可用于驳骨丸的质量控制。

关键词:驳骨丸;延胡索乙素;高效液相色谱法

中图分类号:TQ 460.7⁺2 **文献标识码:**A

驳骨丸由延胡索、三七、当归、骨碎补、狗骨等 10 味中药组成,具有活血止痛、祛瘀生新、续筋接骨作用,是我院治疗骨折的常用医院制剂,延胡索为该丸的主要成分,故以延胡索乙素作为质量控制指标之一,用高效液相色谱法测定其含量,结果满意。

1 仪器与试剂

仪器:高效液相色谱仪 LC-10A,SPD-10AVP 紫外检测器(日本岛津);CK chrom data acquisition system(美国 TSP);6010-紫外分光光度计(惠普上分)。

试剂:延胡索乙素(中国药品生物制品检定所,批号 0726-9906);驳骨丸(本院制剂室提供);超纯水;甲醇为色谱纯,其余为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱:岛津 Shim-pack VP-ODS 柱(4.6 mm $\times$ 250 mm);流动相:甲醇-水(65:35);流速:1.0 mL/min;检测波长:280 nm;柱温:35 $^{\circ}\text{C}$;进样量:20 μL (定量环)。

2.2 供试品溶液制备 取驳骨丸适量研细,取约 2 g,精密称定,置索氏提取器中,加氨水 1 mL,润湿 15 分钟,加适量氯仿,水浴加热至提取液无色(约 5 小时),分取提取液,水浴蒸干,残渣用甲醇溶解并定容 10 mL 量瓶中,摇匀,用微孔滤膜滤过,即得。

2.3 检测波长的确定 用甲醇溶液配制延胡索乙素对照品溶液 56 $\mu\text{g/mL}$,在紫外分光光度计 200~400 nm 范围扫描,结果在 280 nm 波长处有最大吸收,故选之为检测波长。

2.4 对照品溶液的制备与线性关系考察 精密称取延胡索乙素对照品 1.4 mg,置 25 mL 量瓶中,加入甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,分别精密吸取 0.1、0.5、1.0、2.0、3.0 mL 置 10 mL 量瓶中,加甲醇溶液配制成浓度分别为 0.56、2.8、5.8、11.2、16.8 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液,分别以 20 μL 进样,测得峰面积,求得回归方程为 $A=14\ 422.76C-1\ 884.26$, $r=0.999\ 98$ 。表明延胡索乙素在 0.56 $\mu\text{g/mL}$ ~16.8 $\mu\text{g/mL}$ 范围内,线性良好。

2.5 空白试验 按处方比例和制法,自制成不含延胡索的样品,并按供试品溶液的制法制成阴性对照溶液。依法进样测定,结果空白对照溶液在延胡索乙素保留时间处无色谱峰,表明在实验条件下,其他药材成分对测定无干扰。

2.6 稳定性试验 取供试品溶液照上述色谱条件,每隔 1 小时测含量 1 次($n=5$),第二天测定 2 次,积分值无明显变化,平均峰面积为 100 242, RSD 为 1.63%($n=7$)。

2.7 精密度试验 取同一份供试品溶液,每次 20 μL ,重复进样 6 次,结果平均峰面积为 99 912, $RSD=1.52\%$ ($n=6$)。

2.8 重复性试验 取样品(批号 030526)研细,精密称取 6 份,照上述色谱条件测定,结果平均含量为 35.368 $\mu\text{g/g}$, RSD 为 0.5%($n=6$)。该方法符合重复性要求。

2.9 回收率试验 精密量取 1 mL 已知含量的供试品溶液,精密加入一定含量的延胡索乙素对照品溶液,按样品测定项下方法进行操作,计算回收率,结果平均回收率($n=5$) 99.87%, $RSD=0.32\%$ 。

2.10 样品测定 取 4 批样品各 2 g,依法制成供试品溶液,均以 20 μL 进样,分别测定吸收峰面积,外标法计算延胡索乙素含量,结果见表 1。

表 1 样品含量测定结果($n=5$)

批号	含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	$RSD(\%)$
020617	35.252	2.18
030224	43.778	1.20
030526	35.286	1.67
030908	46.978	1.15

3 讨论

驳骨丸药味众多,延胡索乙素较能分离,据文献^[1]用流动相为甲醇-0.1%磷酸(调 pH=6.0)(60:40)分离测定结果不理想,经实验结果显示,甲醇-水(65:35)分离延胡索乙素的效果最好,故选择其为流动相。

参考文献

[1] 龚青等. HPLC 法测定延胡索中延胡索乙素的含量[J]. 中国现代应用药学,2000,17(4):315~316

(收稿日期:2005-07-04)

* 广州中医药大学中医药研究与发展总体规划立项课题(No. CHZ9801)