

祛腐壮骨胶囊的质量标准研究

彭腾,张旭,邓贇(成都中医药大学药学院,成都 610075)

摘要:目的 建立祛腐壮骨胶囊的质量标准。方法 采用薄层色谱法对祛腐壮骨胶囊中的补骨脂、地龙、土鳖虫、红花、紫河车等五味主要中药进行了鉴别,以高效液相色谱法对其主药补骨脂中的补骨脂素进行含量测定。结果 定性鉴别分离度好,专属性强;补骨脂素的含量测定线性范围为 $0.0665 \sim 0.665 \mu\text{g}$ ($r=0.9999$),平均回收率为 98.48% , $\text{RSD}=1.1\%$ 。结论 所建立之方法可靠、准确、专属性强,可有效控制祛腐壮骨胶囊的质量。

关键词:祛腐壮骨胶囊;薄层色谱法;高效液相色谱法;补骨脂素;质量标准

中图分类号:R289 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2008)01-0066-04

Study on Quality Standard of Qufu Zhuanggu Capsules

PENG Teng, ZHANG Xu, DENG Yun (College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the quality standard for Qufu Zhuanggu Capsule. **METHODS** Thin-layer chromatography (TLC) was employed to identify herbs *Angelica sinensis*, *Phe retina aspergillum*, *Eupolyphaga sinensis* Walker, *Carthamus tinctorius* and *Ziheche*, while high performance liquid chromatography (HPLC) was applied for the determination of Psoralen in *psoralea corylifolia* in Shujin Zhuanggu Pill. **RESULTS** The identification by TLC was distinct and highly specific. The assay of Psoralen had the linear range of $0.0665 \sim 0.665 \mu\text{g}$ ($r=0.9999$), The average recovery was 98.48% , RSD was 1.1% . **CONCLUSION** The method is reliable, accurate and specific and can be used for quality control of Qufuzhuanggu Capsules.

KEY WORDS: Qufu Zhuanggu capsules; TLC; HPLC; psoralen; quality standard

祛腐壮骨胶囊由补骨脂、地龙、紫河车等 12 味中药组成的新的复方制剂,具有祛腐生肌、补肾壮阳、强精健骨的功效。为控制该制剂的内在质量,笔者采用薄层色谱法对方中五味主要中药进行了鉴别试验,并以高效液相色谱法对其主药补骨脂中的补骨脂素进行含量测定。方法专属性强,重复性好,可作为该制剂质量控制的依据。

1 实验材料

硅胶 G(青岛海洋化工厂);祛腐壮骨胶囊由成都中医药大学制剂室提供;补骨脂素、异补骨脂素对照品(批号分别为 110739-200612, 110738-200309);紫河车、土鳖虫、地龙、红花对照药材(批号分别为 0872-9802, 120937-200305, 913-8902, 902-8903)购自中国药品生物制品检定所;其他药品与试剂均为分析纯。

2 薄层色谱法

基金项目:四川省教育厅资助项目(2004A046)

作者简介:彭腾,男,博士,高级实验师 Tel: (028) 61800231

E-mail: pengtengl973@sina.com

2.1 补骨脂的薄层鉴别

取本品内容物约 5 g,加无水乙醇 30 mL,超声 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加 10 mL 蒸馏水超声溶解,加乙酸乙酯萃取 2 次,每次 10 mL,乙酸乙酯挥干,残渣加无水乙醇定容至 1 mL,作为供试品溶液。另取补骨脂素及异补骨脂素对照品,加甲醇制成每毫升分别含补骨脂素及异补骨脂素 1 mg 的混合溶液,作为对照品溶液。取缺补骨脂的阴性样品 5 g,同法制成阴性对照溶液,照薄层色谱法^[1]试验,吸取对照品溶液 4 μ L,供试品溶液 6 μ L,阴性对照溶液 6 μ L 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上,以正己烷:乙酸乙酯(4:1)为展开剂,展开,取出,晾干,在 365 nm 荧光下观察。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的亮兰色荧光斑点,阴性无干扰,薄层色谱见图 1。

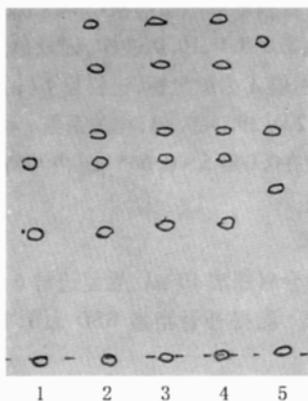


图 1 补骨脂 TLC

1 - 补骨脂素及异补骨脂素对照混合溶液;2~4 - 样品溶液;5 - 阴性样品

Fig 1 TLC of *Angelica sinensis*

1 - Psoralen and isopsoralen control mixed solution; 2~4 - sample; 5 - negative reference substance

2.2 地龙的薄层鉴别

取本品内容物约 10 g,加氯仿 50 mL 密塞超声 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇定容至 1 mL,作为供试品溶液。另取地龙对照药材 1 g,阴性样品 10 g,同法制成地龙对照药材溶液、地龙阴性对照溶液。照薄层色谱法^[1]试验,分别吸取地龙对照药材溶液、供试品溶液、阴性对照液三种溶液 4, 6, 6 μ L,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上,以苯:乙酸乙酯(9:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 的硫酸乙醇溶液,105 $^{\circ}$ C 烘至斑点显色。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的红色斑点,阴性无干扰,薄层色谱见图 2。

2.3 土鳖虫的薄层鉴别

取本品内容物约 10 g,加甲醇 50 mL,冷浸 2 h,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取土鳖虫对照药材 1 g,阴性样品 10 g,同法制成土鳖虫对照药材溶液、土鳖虫阴性对照溶液。照薄层色谱法^[1]试验,分别吸取土鳖虫对照药材溶液、供试品溶液、阴性对照液三种溶液 4, 6, 6 μ L,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶

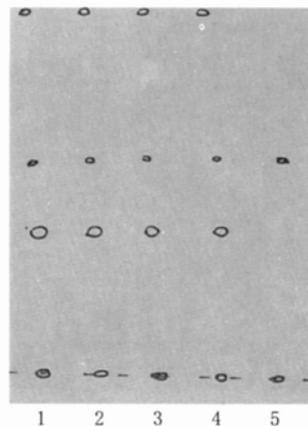


图 2 地龙 TLC

1 - 地龙对照药材;2~4 - 样品溶液;5 - 阴性样品

Fig 2 TLC of *Pheretima aspergillum*

1 - Reference substance with *Pheretima aspergillum*; 2~4 - Sample; 5 - Negative reference substance

G 薄层板上,以氯仿-甲醇(9:5:0.5)为展开剂,展开,取出,晾干,喷 10% 硫酸乙醇溶液,105 $^{\circ}$ C 烘至斑点显色。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性无干扰,薄层色谱见图 3。

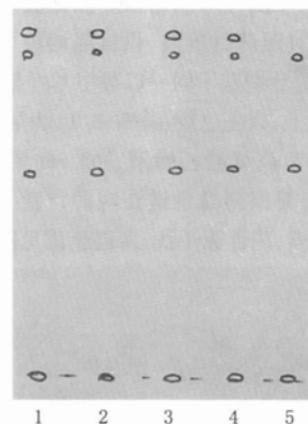


图 3 土鳖虫 TLC

1 - 土鳖虫对照药材;2~4 - 样品溶液;5 - 阴性样品

Fig 3 TLC of *Eupolyphaga sinensis* Walker

1 - Reference substance with *Eupolyphaga sinensis* Walker; 2~4 - Sample; 5 - Negative reference substance

2.4 红花的薄层鉴别

取本品内容物约 10 g,加 50 mL 水煎煮 30 min,过滤,滤液浓缩至 30 mL,加乙酸乙酯萃取 2 次,每次 10 mL,回收溶剂,残渣加甲醇定容至 1 mL,作为供试品溶液。另取红花对照药材 1 g,阴性样品 10 g,同法制成红花对照药材溶液、红花阴性对照溶液。照薄层色谱法^[1]试验,分别吸取红花对照药材溶液、供试品溶液、阴性对照液三种溶液 4, 8, 8 μ L,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯(5:2)为展开剂,展开,取出,晾干,以氨熏 10 min。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的棕色斑点,阴性无干扰,薄层色谱见图 4。

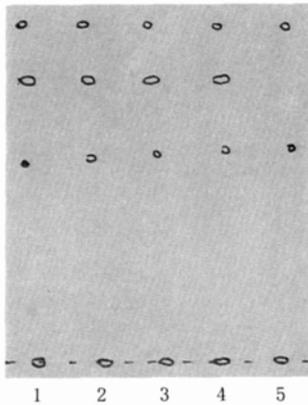


图 4 红花 TLC

1 - 红花对照药材; 2~4 - 样品溶液; 5 - 阴性样品

Fig 4 TLC of Carthamus tinctorius

1 - Reference substance with Carthamus tinctorius; 2~4 - Sample; 5 - Negative reference substance

2.5 紫河车的薄层鉴别

取本品内容物约 10 g,加甲醇 50 mL,超声 30 min,过滤,滤液回收至干,残渣加甲醇定容至 1 mL 作为供试品溶液。另取紫河车对照药材 1 g,阴性样品 10 g,同法制成紫河车对照药材溶液、紫河车阴性对照溶液。照薄层色谱法^[1]试验,分别吸取紫河车对照药材溶液、供试品溶液、阴性对照液三种溶液 4, 6, 6 μ L,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上,以正己烷-丙酮(3:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 20% 高氯酸乙醇液,365 nm 荧光下观察。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的浅兰色荧光斑点,阴性无干扰,薄层色谱见图 5。

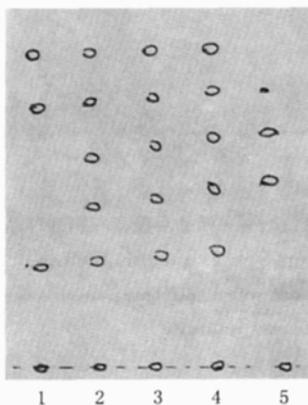


图 5 紫河车 TLC

1 - 紫河车对照药材; 2~4 - 样品溶液; 5 - 阴性样品

Fig 5 TLC of Zihache

1 - Reference substance with Zihache; 2~4 - Sample; 5 - Negative reference substance

3 含量测定

3.1 对照品溶液制备

精密量取补骨脂素对照品适量,置量瓶中,加甲醇制成每 1 mL 含 6.65 μ g 的溶液,即得。

3.2 样品溶液的制备

取本品装量差异项下的内容物,研细,混匀,取 0.25 g,精密称定,置具塞圆底烧瓶中,精密加入甲醇 25 mL,塞紧,称定重量,水浴回流 1 h,取出放冷,再称定重量,用甲醇补足重量,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μ m)滤过,取续滤液,即得。

3.3 阴性对照溶液的制备

按处方比例配制缺补骨脂的阴性空白样品,按“3.2”项下的制备方法制成阴性对照溶液。

3.4 色谱条件

Agilent 1100 系列高效液相色谱仪; Kromasil C₁₈ 色谱柱(5 μ m, 200 mm \times 4.6 mm); 流速 1 mL \cdot min⁻¹; 检测波长采用 246 nm; 柱温 30 $^{\circ}$ C; 检测器采用二级管阵列紫外检测器。理论塔板数按补骨脂素峰计算应不低于 2 500, 阴性对照无干扰。

3.5 标准曲线的制备

精密量取补骨脂素对照品溶液(6.65 μ g \cdot mL⁻¹), 分别以 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 进样, 记录色谱图, 测定峰面积值, 并以峰面积值 A 为纵坐标, 进样量 C(μ g) 为横坐标, 得回归方程: $Y = 3\,204.39X + 9.63$, 相关系数 $r = 0.999\,9$ 。说明补骨脂素进样量在 0.066 5 ~ 0.665 μ g 内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

3.6 精密度试验

精密吸取混合对照液 10 μ L, 重复进样 6 次, 按上述色谱条件测定峰面积。测得补骨脂素 RSD 为 1.16%, 结果表明精密度良好。

3.7 稳定性试验

吸取同一供试品溶液, 每隔 2 h 按上述色谱条件测定 1 次, 12 h 内连续测定 6 次, 结果表明供试品溶液稳定, RSD 均 0.98%。

3.8 重复性试验

取同一批号样品(批号: 20051001), 按含量测定项下的方法操作, 平行 6 份, 按上述色谱条件测定, 测得补骨脂素的含量平均值为 10.13, RSD 为 1.90%。表明样品重复性良好。

3.9 加样回收率试验

精密称取已知含量的样品 6 份(批号: 20051001), 分别精密加入补骨脂素对照品(以溶液形式加入), 按上述测定方法进行测定, 结果见表 1。

$$\text{回收率} = \frac{\text{测得量} - \text{样品中含量}}{\text{加入对照品量}} \times 100\%$$

表 1 加样回收率试验结果 ($n = 2$)

Tab 1 Results of recovery test ($n = 2$)

取样量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	\bar{x} /%	RSD /%
0.1740	7.055	6.084	12.875	95.66	98.48	1.1
0.1675	6.791	6.084	12.767	98.22		
0.1728	7.006	6.084	13.011	98.70		
0.1745	7.075	6.084	13.219	100.90		
0.1711	6.937	6.084	13.060	100.60		
0.1720	6.979	6.084	12.869	96.80		

3.10 样品含量测定

3个批号舒筋壮骨丸含量测定按前述方法制备对照品溶液与供试品溶液,分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各10 μL ,按上述色谱条件测定并计算含量,3批样品含量分别为12.156,12.270,12.044 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

4 讨论

4.1 红花的鉴别中,按照中国药典2005年版一部红花项下鉴别,供试品溶液用80%的丙酮溶解超声,取上清液,按此条件,没有明显的斑点。同时又按照文献^[2-3]实验了好几种方法,效果都不理想,而用本方法鉴别,专属性强,阴性无干扰。

4.2 紫河车鉴别中,曾实验了文献^[4-6]中的几种方法,效果均不理想,而用本方法鉴别,专属性强,阴性无干扰。

REFERENCES

[1] Ch. P(2005) Vol I (中国药典 2005年版.一部)[S]. 2005: ap-

pendix 31-32.

- [2] YANG S H, CHEN H Z, XIONG X K, *et al.* TLC Identification of *Carthamus tinctorius* L. in Four Different Chinese Patent Medicine[J]. *Chin Med Mater*(中药材), 1994, 17(4): 21-22.
- [3] WU Z C, LUO G M, HUO Y C. TLC identification of *carthamus tinctorius* [J]. *J Chin Med Mater*(中药材), 1998, 21(9): 441-444.
- [4] ZHU Z X. TLC Identification of *Zi He Che* and Its Counterfeit [J]. *J Chin Med Mater*(中药材), 1996, 19(8): 402-403.
- [5] HUO H. Preparation and TLC Identification of *Shu Gan Huo Le Table*[J]. *China J Basic Med Tradit Chin Med*(中国中医基础医学杂志), 2003, 9(6): 68-69.
- [6] LI Z Q. TLC Identification of *Zi He Che* in *Zi Yang Hui Sheng Dan*[J]. *Shandong Med Ind*(山东医药工业杂志), 1995, 14(4): 6.

收稿日期: 2006-03-09