

益气生骨颗粒剂的质量标准研究

谢 艳 朱太咏 秦 娜

(河南省正骨研究院,河南省洛阳市启明南路 82 号,471002)

关键词 益气生骨颗粒剂;薄层色谱鉴别

益气生骨颗粒剂是我院的一项新药开发制剂。本方由黄芪、党参、木香、红花、赤芍等中药组成,具有益气生骨,去瘀生新,通脉止痛的作用,用于严重跌打损伤、创伤性骨折。为了有效地控制其产品质量,本课题采用薄层色谱法对方中黄芪、木香、红花及赤芍进行了定性鉴别,对黄芪甲苷的含量进行了测定,现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 日本岛津 CS-9301 型薄层扫描仪。

1.2 对照品及对照药材 黄芪甲苷、芍药苷均购自中国药品生物制品检定所,木香、红花对照药材由我院药剂科提供。

1.3 试剂与样品 化学试剂均为分析纯,益气生骨颗粒剂及各味药的阴性对照样品均由我院制剂科提供。

2 定性鉴别

2.1 木香的鉴别 取 9g 颗粒剂,用 30mL 水溶解,用乙醚萃取两次(30mL,20mL),取乙醚层,加入 4% NaOH 溶液 40mL 洗涤,乙醚液加入无水硫酸钠 2g,振摇,滤过,残渣用乙醚 10mL 分两次洗涤,滤液与洗涤液合并,挥干,残渣加甲醇 1mL 使溶解,作为供试品溶液。取木香药材 1g,加水提取 1h,同法制成对照药材溶液。取木香阴性药液,同法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 VIB)试验,吸取上述木香药材对照溶液 1 μ L,供试品和阴性对照溶液各 6 μ L 分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(60-90 $^{\circ}$ C)-乙酸乙酯(9:1)为展开剂,展开,取出,晾干。喷以 5% 香草醛硫酸液显色,电风吹至显色清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。阴性对照无此斑点。

2.2 红花的鉴别 取颗粒 9g,用水饱和的正丁醇提取 3 次,每次 15mL,合并正丁醇液,水浴蒸干,残渣加甲醇 5mL 溶解,加入已处理好的中性氧化铝柱上(100-200 目,2g,内径 1.5cm),以甲醇 10mL 洗脱,收集洗

脱液,挥干,残渣加 1mL 甲醇溶解为供试品溶液。另取红花对照药材 1g,加水煎煮 1h,上清液同法制成对照药材溶液。取红花阴性制剂同法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 VIB)试验,吸取上述三种溶液各 6 μ L 分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-甲苯-甲醇(75:25:5)为展开剂,单向展开两次,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇液,置紫外光灯(365nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。阴性对照无此斑点。

2.3 赤芍的鉴别 称取 9g 颗粒,加氯仿 20mL,超声处理 20min,弃去滤液,药渣加 70% 乙醇 30mL,超声处理 20min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 30mL 使溶解,用水饱和的正丁醇提取 3 次(30mL,30mL,30mL),合并正丁醇液,蒸至少量。上中性氧化铝柱(100-200 目,内径 10~15mm,4g)用乙醇-乙酸乙酯(1:1)30mL 预洗,继以甲醇 40mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干。残渣加甲醇 1mL 使溶解为供试品。取芍药苷标准品制成 1mg/mL 的标准品溶液。另取赤芍阴性制剂同法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 VIB)试验,吸取上述标准品溶液 2 μ L,供试品和阴性对照溶液各 8 μ L 分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(40:5:10:0.2)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 香草醛硫酸溶液,电风吹至斑点显色,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。阴性对照无此斑点。

3 黄芪甲苷的含量测定

3.1 对照品溶液的制备 取黄芪甲苷对照品精密称定 2.25mg,置 2mL 容量瓶中,加甲醇溶解并稀释到刻度,摇匀,即得 1.125mg/mL 的标准品溶液。

3.2 供试品溶液的制备 取本品 12g,研细。置具塞锥形瓶中,精密加入水 60mL 溶解,称重,超声提取 30min,放冷,称重,加水补足减失重量,离心,将上清液转出。精密吸取滤液 45mL,用乙醚提取 3 次,每次

基金项目:河南省科技公关项目(991170632)

20mL,弃去乙醚液,再用水饱和的正丁醇提取4次,每次20mL,合并正丁醇液,用1% NaOH洗涤2次,每次30mL,再用饱和正丁醇的水洗至中性,正丁醇液水浴蒸干,残渣用甲醇溶解并转移至2mL容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

3.3 阴性对照液的制备 取阴性对照颗粒,同法做成阴性制备液。

3.4 色谱条件 层析板为硅胶G板。展开剂:氯仿-甲醇-水(65:35:10)10℃以下放置的下层溶液为展开剂,展距10cm。显色剂为10%硫酸乙醇溶液。

3.5 扫描参数 采用单波长反射锯齿形扫描法,测定波长 $\lambda_s = 520\text{nm}$ 。光束狭缝:0.4×0.4mm,线性参数SX=3。

3.6 线性关系的考察 精密吸取浓度为每1mL含1.125mg的黄芪甲苷对照品溶液1,2,3,4,5,6 μL ,分别点于同一薄层板上,展开,显色,按上述色谱条件测定,以浓度为横坐标,峰面积积分为纵坐标,得回归方程 $Y = 648.26X + 108.1$, $r = 0.995$ ($n = 6$),表明黄芪甲苷在1.125~6.75 μg 浓度范围内具有良好的线性关系。

3.7 精密密度试验 仪器精密密度实验:对薄层板上同一斑点连续扫描8次,平均峰面积积分为2781.1, $RSD = 1.9\%$ 。同板精密密度实验:取同一浓度的黄芪甲苷标准品溶液6份各4 μL ,分别点于同一薄层板上,展开,取出,晾干,显色后依法操作,薄层扫描测定吸光度峰面积积分值,平均峰面积积分为3337.9, $RSD = 2.06\%$ 。异板精密密度实验:取同一黄芪甲苷标准品溶液,上样3 μL ,分别点于5块薄层板上,依法测定,平均峰面积积分为2035.7, $RSD = 1.98\%$ 。

3.8 稳定性试验 取供试品溶液点样,依法操作,对同一斑点每隔20min扫描1次,记录峰面积积分值,结果表明在2h内基本稳定, $RSD = 1.65\%$ 。

3.9 重现性试验 取同一批号的样品5份,按上述测定条件重复测定5次,平均含量为0.66mg/袋, $RSD = 2.6\%$ 。

3.10 回收率试验 采用加样回收法,精密称取已知含量的益气生骨颗粒,样品6份,分别精密添加黄芪甲苷对照品溶液(1.125mg/mL)100 μL ,按上述方法测定,计算回收率,结果平均回收率为99.38%, $RSD = 2.3\%$ 。结果见表1。

3.11 样品测定 精密吸取供试品溶液6 μL ,对照品溶液2 μL 和4 μL ,分别交叉点于同一硅胶薄层板上,依法展开和测定。共测定样品5批,结果见表2。

表1 回收率实验结果($n = 6$)

样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.6675	0.1125	0.7830	102.67		
0.6667	0.1125	0.7782	99.11		
0.6650	0.1125	0.7743	97.15	99.38	2.3
0.6678	0.1125	0.7823	101.78		
0.6638	0.1125	0.7734	97.42		
0.6654	0.1125	0.7758	98.13		

表2 含量测定结果($n = 5$)

批号	黄芪甲苷含量(mg/袋)		平均含量/mg/袋
	X1	X2	
20050606	0.6667	0.6757	0.6712
20050613	0.6658	0.6708	0.6683
20050624	0.6563	0.6513	0.6538
20050701	0.6674	0.6681	0.6678
20050712	0.6650	0.6713	0.6682

4 讨论

其中木香的鉴别中NaOH提取时要充分分离,才可以取乙醚层。黄芪甲苷含量测定时,在样品的制备过程中,以前有报道用水饱和的正丁醇提取后,用氨水提取,与黄芪甲苷紧邻的上方有一红色干扰。需上中性氧化铝柱才能除去,此方法可以省去这一步。

参考文献

- [1]倪艳,刘霞,李先荣,等.男康片的薄层色谱鉴别研究.时珍国医国药,2002,13(7):409.
- [2]陈家进,刘俊怡,苏娟,等.复方益芪颗粒质量标准研究.中成药,2005,27(2):167.

(2010-09-13收稿)

书讯:《叶天士诊治大全》 修订再版

叶天士是清代著名中医大师,他对中医学的发展作出了重大的贡献,创造了温病学派,同时对杂病也有许多创见。因此,中医界把他的医案遵之为“临证指南”,为中医必修课程。由于叶天士医案散有8本之多,作者将这8本医案综合汇集分析,并且诠释他的理、法、方、药,使读者能深入全面地了解叶天士的医术。该书在1995年初版,曾获好评。最近应出版社和读者之邀,作了一次修订,已经由人民军医出版社再版发行,欢迎购阅。邮购电话:(010)51927252。