

全鹿丸质量标准研究

于百青¹,李世玲²,刘峰¹

(1. 黑龙江省齐齐哈尔市药品检验所,161006;2. 齐齐哈尔医学院第一附属医院西药局,161041)

摘要 目的 建立全鹿丸的质量控制方法。方法 采用薄层色谱法对全鹿丸中主要成分当归、川芎、五味子、锁阳和沉香等进行定性鉴别。采用高效液相色谱法测定五味子醇甲的含量。色谱条件:色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm,5 μm),流动相为甲醇-水(63:37),检测波长为 250 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温 30 ℃。结果 在薄层色谱中均能检出当归、川芎、锁阳和沉香等药味的特征斑点。五味子醇甲进样量在 0.248 6~1.243 0 μg 范围内与峰面积积分值线性关系良好($r=0.999\ 8$),平均加样回收率为 98.73%,RSD=0.46%($n=6$)。结论 该方法操作简单,专属性强,准确可靠,重复性好,可用于全鹿丸的质量控制。

关键词 全鹿丸;五味子醇甲;色谱法,薄层;色谱法,高效液相

中图分类号 R286;R927.1 **文献标识码** A **文章编号** 1004-0781(2012)03-0364-03

全鹿丸收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第一册^[1],由全鹿干、当归、川芎、锁阳、枸杞子和五味子等 32 味药组成,具有补肾填神、益气培元的功效。用于老年阳虚、腰膝酸软、畏寒肢冷、肾虚尿频、妇女血亏、崩漏带下等症。但质量标准中仅有对丸剂的常规检查项,而无其他质量控制方法。笔者采用薄层色谱法定性鉴别了处方中的当归、川芎、锁阳和沉香等药材,采用高效液相色谱法对五味子中的有效成分五味子醇甲进行了定量分析,以控制其内在质量。

1 仪器与试药

1.1 仪器 LC-10A_{VP}型高效液相色谱仪(日本岛津),包括 SPD-10A_{VP}紫外检测器,浙江大学 N2000 色谱数据工作站;UV2550 型紫外-可见分光光度计(日本岛津);BP211D 型电子天平(德国赛多利斯);紫外分析仪(上海嘉鹏科技有限公司);水浴锅(北京市永光明医疗仪器厂);KQ-1000 型超声波处理器(昆山市超声仪器有限公司);202-0 型电热恒温干燥箱(天津市泰斯特仪器有限公司)。

1.2 试药 硅胶 G(青岛海洋化工厂),甲醇为色谱纯,水为纯化水,其余试剂均为分析纯。五味子醇甲对照品(批号:110857-200709)、熊果酸对照品(批号:110742-200517)、当归对照药材(批号:120927-200613)、川芎对照药材(批号:120918-200809)、锁阳对照药材(批号:121393-200401)均由中国药品生物制品检定所提供;沉香对照药材由黑龙江省食品药品检验检测所鉴定为瑞香科植物白木香[*Aquilaria sinensis*

(Lour.) Gila] 含有树脂的木材^[2]。全鹿丸(长春经开药业有限公司,批号分别为 20100401,20100402,20100403;规格为每袋 6 g),处方中药材(齐齐哈尔市康复药材有限责任公司提供)。

2 方法与结果

2.1 薄层层析鉴别

2.1.1 当归与川芎的薄层色谱鉴别 取本品 2 袋,研细,加乙醚 20 mL,超声处理 10 min,滤过,滤液挥干,残渣加乙醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取当归对照药材 0.5 g,同法制成当归对照药材溶液;再取川芎对照药材 0.5 g,同法制成川芎对照药材溶液。按处方量制备缺当归、川芎的阴性对照样品,并按供试品溶液处理方法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法(2010 年版《中华人民共和国药典》一部附录 VI B)实验。吸取上述 4 种溶液各 5 μL,分别点于同一硅胶 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,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点^[2-3],阴性对照无干扰(图 1)。

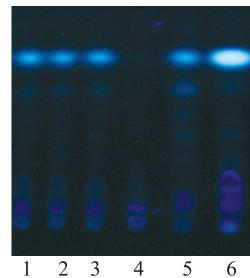


图 1 当归与川芎的薄层色谱图

1~3. 供试品溶液;4. 缺当归及川芎阴性对照;5. 当归对照药材;6. 川芎对照药材

收稿日期 2011-07-20 修回日期 2011-09-26

作者简介 于百青(1979-),男,黑龙江齐齐哈尔人,主管药师,学士,从事药品检验工作。电话:0452-2713908 ,E-mail: ybq19790801@126.com。

2.1.2 锁阳的薄层色谱鉴别 取本品 2 袋,研细,加乙酸乙酯 20 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液浓缩至约 1 mL,作为供试品溶液。另取锁阳对照药材 1 g,同法制成对照药材溶液;再取熊果酸对照品,加甲醇制成每毫升含 0.5 mg 的溶液,作为对照品溶液。按处方量制备缺锁阳的阴性对照样品,并按供试品溶液处理方法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法(2010 年版《中华人民共和国药典》一部附录 VI B)实验。吸取上述供试品溶液 10 μ L,对照品、对照药材及阴性对照溶液各 4 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(20:4:0.5)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同的紫红色斑点(图 2 A);置紫外光灯(365 nm)下检视,供试品色谱中,在与对照品及对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点^[2-4],阴性对照无干扰(图 2 B)。

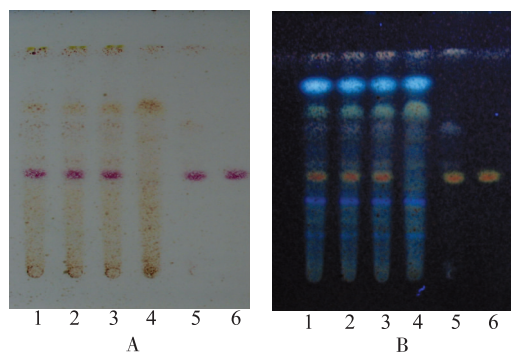


图 2 锁阳的薄层色谱图

1~3. 供试品溶液;4. 缺锁阳阴性对照;5. 锁阳对照药材;6. 熊果酸对照品

2.1.3 沉香的薄层色谱鉴别 取本品 2 袋,研细,加乙醚 30 mL,超声处理 45 min,滤过,滤液挥干,残渣加三氯甲烷 2 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取沉香对照药材 0.5g,同法制成对照药材溶液。按处方量制备缺沉香的阴性对照样品,并按供试品溶液处理方法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法(2010 年版《中华人民共和国药典》一部附录 VI B)实验,吸取上述三种溶液各 5 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-乙醚(10:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点^[2],阴性对照无干扰(图 3)。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱:Diamonsil C₁₈柱(250 mm×4.6 mm,5 μ m);流动相:甲醇-水(63:37);检测波长:250 nm;流速:1.0 mL·min⁻¹;柱温:30 $^{\circ}$ C;进样量:10 μ L。理论板数按五味子醇甲峰计算应不低于 2 000。

2.2.2 溶液制备 取装量差异项下的全鹿丸(批号:20100401),研细,取约 6 g,精密称定,加乙酸乙酯 50 mL,加热回流 30 min,放冷,滤过,用乙酸乙酯 50 mL 分次洗涤滤渣及容器,洗液与滤液合并,蒸干,残渣用甲醇溶解,转移至 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液作为样品溶液。称取五味子醇甲对照品 0.010 93 g,置于 100 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。

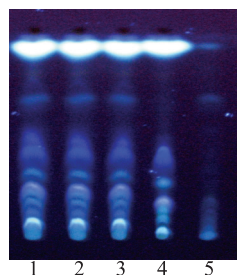


图 3 沉香的薄层色谱图

1~3. 供试品溶液;4. 缺沉香阴性对照;5. 沉香对照药材

2.2.3 方法学考察

2.2.3.1 阴性对照实验 按处方量制备缺五味子阴性对照样品,按样品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。取样品、对照品、阴性对照品溶液,依法进样。结果阴性样品不干扰五味子醇甲的测定。

2.2.3.2 线性关系考察 称取五味子醇甲对照品 0.012 43 g,置于 50 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,精密量取此溶液 1,2,3,4,5 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,分别进样 10 μ L 注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定并计算峰面积,以进样量(μ g)为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),绘制标准曲线,得回归方程: $Y = 8.32 \times 10^5 X - 3.61 \times 10^4$ ($r = 0.999 8$)。结果表明,五味子醇甲进样量在 0.248 6~1.243 0 μ g 范围与峰面积线性关系良好。

2.2.3.3 精密度实验 精密吸取对照品溶液,连续重复进样 5 次,每次 10 μ L。测定五味子醇甲峰面积,结果 RSD=0.41% ($n=5$),表明仪器精密度良好。

2.2.3.4 重复性实验 取同一批样品(批号:20100401)制备样品溶液 6 份,按上述方法进行含量测定,计算,

结果每袋五味子醇甲平均含量为 0.412 mg, RSD = 0.96% ($n=6$), 表明方法重复性良好。

2.2.3.5 稳定性实验 取重复性实验项下 1 号样品溶液, 精密吸取室温放置的此溶液 10 μL , 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 注入液相色谱仪, 测定五味子醇甲峰面积。结果 RSD 为 0.53% ($n=7$), 表明在 12 h 内样品溶液稳定性良好。

2.2.3.6 加样回收率实验 精密称取已知含量(每袋 0.412 mg)的样品 6 份, 各 3 g, 各精密加入对照品溶液 2 mL, 再按样品溶液制备方法制备溶液, 依法测定, 计算平均回收率为 98.73%, RSD=0.46%。见表 1。

表 1 五味子醇甲加样回收率结果

样品含量	加入量	测得量	回收率/ %
	mg		
0.203 5	0.218 6	0.418 9	98.54
0.197 7	0.218 6	0.413 8	98.86
0.210 1	0.218 6	0.424 3	97.99
0.208 2	0.218 6	0.424 7	99.04
0.205 6	0.218 6	0.421 2	98.63
0.192 5	0.218 6	0.409 6	99.31

2.2.4 样品测定 按上述方法对 3 批中试产品的五味子醇甲含量进行了测定, 结果批号为 20100401, 20100402, 20100403 的样品每袋中五味子醇甲含量分别为 0.412, 0.419, 0.408 mg。根据 3 批样品含量测定结果, 考虑到药材产地、加工、运输、贮存的影响, 五味子中五味子醇甲含量也会有较大差别, 故暂定本品每袋含五味子以五味子醇甲 ($\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_7$) 计, 不得少于 0.30 mg。

3 讨论

在对当归与川芎进行鉴别时发现, 展开系统按照《中华人民共和国药典》收载川芎的方法配制, 样品特征斑点分离效果不好; 在对锁阳进行鉴别时发现, 10% 硫酸乙醇溶液不宜喷得太多, 薄层板加热时间不宜太长, 否则易炭化, 影响斑点效果; 3 批样品实验结果显示, 用薄层色谱法能很快对全鹿丸进行定性鉴别, 斑点清晰, 结果准确可靠, 操作简便, 重复性好。

采用紫外-可见分光光度计对五味子醇甲对照品溶液在 200 ~ 400 nm 波长范围扫描, 结果对照品溶液在 250 nm 波长处有最大吸收, 因此确定 250 nm 为检测波长。本实验曾以甲醇超声对样品进行处理, 但未达到满意的提取效果。以甲醇-水 (55 : 45)^[5] 为流动相, 结果样品五味子醇甲峰有干扰。本实验中五味子醇甲的含量测定, 样品处理简单, 阴性无干扰, 精密度高, 可用于全鹿丸的质量控制。

参考文献

- [1] 卫生部药品标准·中药成方制剂(第 1 册)[S]. WS3-B-0072-89:73.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010:124, 172, 325.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典中药材薄层色谱彩色图集(第 1 册)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 242.
- [4] 王学军, 江振, 刘雄. 高效液相色谱法测定不同产地锁阳中熊果酸的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2010, 30(16): 1414-1415.
- [5] 舒毕琼, 甘露. RP-HPLC 法测定肝得治胶囊中五味子醇甲的含量[J]. 中医药导报, 2008, 14(8): 103-104.

DOI 10.3870/yydb.2012.03.033

《医药导报》杂志加入万方数据库等的声明

《医药导报》杂志已加入“万方数据资源系统化期刊群”、中国学术期刊(光盘版)和“中国期刊网”、中国生物医学期刊引文数据库、维普数据库。凡被本刊录用的文章, 均将纳入以上网络, 且本刊所付稿酬均包含以上网络稿酬。若不同意, 请在投稿时注明或另投他刊。

《医药导报》编辑部