

独藤丸质量标准研究

谢暎^{1*}, 赵庆华², 巩伟²

(1. 山东省交通医院, 济南 250031; 2. 济南军区联勤部药品仪器检验所, 济南 250022)

[摘要] 目的: 建立独藤丸质量标控制方法, 为进一步扩大应用提供参考。方法: 采用薄层色谱法(TLC)对独藤丸中独活、桑寄生、茯苓、甘草药材进行定性鉴别; 采用高效液相色谱法(HPLC)测定独藤丸中蛇床子素的含量。结果: TLC 定性鉴别斑点清晰, 分离度好, 色谱特征明显; HPLC 测定蛇床子素 20~200 mg·mL⁻¹ 呈良好的线性关系($r=0.9997, n=5$), 平均回收率为 99.57%, RSD 2.309%。结论: 方法简便、可靠、专属性强、重复性好、方法准确, 可用于独藤丸的质量控制。

[关键词] 独藤丸; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 蛇床子素; 质量标准

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)04-0143-03

Study on Quality Specification of Duteng Pills

XIE Jian^{1*}, ZHAO Qing-hua², GONG Wei²

(1. Traffic Hospitals in Shandong Province, Ji'nan 250031, China; 2. Institute for Drug and Instrument Control, Joint Logistics Department of the Jinan Military Region, Ji'nan 250022, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for the quality control of Duteng pills. **Method:** *Pubescent angelica*, *Loranthus parasiticus*, *Poria cocos*, *Glycyrrhiza uralensis* were identified by thin-layer chromatography (TLC). The osthole of Duteng pills was determined by HPLC. **Result:** The characteristic for identification by TLC was distinct. The linear correlation of osthole was good in the range of 20-200 mg·L⁻¹ ($r=0.9997$) ($n=5$) and the recovery was 99.57% (RSD 2.309%). **Conclusion:** The method is convenient and reliable with good specificity and reproducibility. It can be used for the quality control of Duteng pills.

[Key words] Duteng pills; TLC; HPLC; osthole; quality specification

独藤丸是我院药学科研究人员与临床专家经多年实践研制而成的纯中药制剂, 由独活、桑寄生、茯苓、鸡血藤、甘草等 8 味中药经水提浓缩等工艺制备的浓缩丸, 具有止痛、益气、补气血等功效, 临床上用于治疗腰腿疼取得了较好的效果, 但目前尚缺乏该制剂的质量控制标准。本研究对独藤丸组方药物中独

活、桑寄生、茯苓、甘草药物进行了薄层色谱定性鉴别, 同时利用高效液相色谱法对有效成分蛇床子素进行含量测定, 建立了该制剂的质量标准。

1 仪器与试剂

Agilent 1200 型高效液相色谱仪, 色谱柱为岛津 VP-ODS 柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), BSA223S

[收稿日期] 20120707(002)

[通讯作者] * 谢暎, 主管药师, 从事院内制剂研究与临床合理应用分析, Tel: 15253170177, E-mail: xiejian199008@163.com

[13] 古丽娜·沙比尔, 阿吉艾克拜尔·艾萨, 石明辉, 等. HPLC 同时测定苦豆子中槐定碱、氧化槐果碱和氧化苦参碱的含量 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(24):2619.

[14] 徐今宁, 赵秀华. 苦参有效成分的定量分析和药代动力学研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(9):69.

[15] 王铁军, 李绍平, 简家荣, 等. 苦参碱抗肿瘤作用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2004, 10(4):52.

[16] 刘敬霞, 李建生. 苦参及其有效成分治疗失眠症研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(11):284.

[17] 杨巧丽, 顾政一, 黄华. 中药苦豆子的研究进展 [J]. 西北药学杂志, 2011, 26(3):232.

[责任编辑 顾雪竹]

型电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司), KQ-500E 型超声波清洗器(昆明市超声仪器有限公司)。

蛇床子素对照品(110822-200305 供含量测定用, 中国药品生物制品检定所), 独藤丸组方药物(独活、桑寄生、茯苓、鸡血藤、甘草等)饮片, 经山东中医药大学石俊英教授鉴定均符合为《中国药典》各药项下的标准规定。独藤丸及缺独活的阴性样品均由医院制剂室制备。所用试剂甲醇、乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 供试品的制备

2.1.1 对照品溶液的制备 取蛇床子素对照品加甲醇定容配制 $27.52 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 取独藤丸, 研碎, 取约 2.5 g, 精密加入甲醇 25 mL, 超声提取 2 次, 每次 30 min, 放冷, 滤过, 滤液水浴蒸干, 残渣加水 15 mL 溶解, 以乙酸乙酯萃取 2 次, 每次 20 mL, 合并萃取液, 浓缩定容至 2 mL, 作为供试品溶液①。将乙酸乙酯萃取后剩余药液用水饱和的正丁醇萃取两次, 每次 20 mL, 合并萃取液, 浓缩定容至 2 mL, 作为供试品溶液②。独活、桑寄生、茯苓饮片按处方比例称取适量, 水煎液按供试品①方法制备, 作为各自的供试品溶液。甘草饮片水煎液按供试品②方法制备供试品溶液。

2.1.3 阴性对照溶液的制备 分别取缺独活、桑寄生、茯苓、及甘草的阴性独藤丸样品, 按 2.1.2 项下的方法制备阴性对照溶液。

2.2 薄层定性鉴别

2.2.1 独活 吸取供试品①、缺独活的阴性对照溶液、独活供试品溶液及蛇床子素对照品溶液各 $10 \mu\text{L}$, 分别点于同一硅胶薄层板上, 以三氯甲烷-石油醚-乙酸乙酯(15: 15: 4)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365 nm)下检视^[1]。结果供试品溶液①在与独活及蛇床子素对照品溶液相同位置显相同颜色的斑点, 阴性样品无干扰。

2.2.2 桑寄生 吸取供试品溶液①、桑寄生供试品溶液、缺桑寄生的阴性对照溶液各 $10 \mu\text{L}$, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-甲酸乙酯-甲酸(5: 4: 1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 三氯化铝乙醇溶液, 置紫外光灯(365 nm)下检视^[1]。结果供试品溶液①与桑寄生供试品溶液在相同位置显相同颜色的斑点。

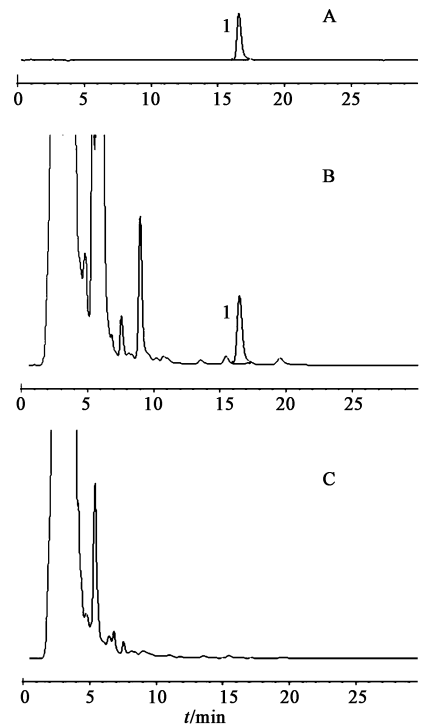
2.2.3 茯苓 吸取供试品溶液①、茯苓供试品溶

液、缺茯苓的阴性对照溶液各 $10 \mu\text{L}$, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚(30 ~ 60 °C)-丙酮-乙酸乙酯(84: 15: 1)为展开剂展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365 nm)下观察^[2]。结果供试品溶液①与茯苓药材供试品溶液在相同位置显相同颜色的斑点。

2.2.4 甘草 吸取供试品溶液②、甘草供试品溶液、缺甘草的阴性对照溶液各 $10 \mu\text{L}$, 分别点于同一硅胶薄层板上, 以二氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(25: 5: 10: 0.2)为展开剂^[3], 展开, 取出, 晾干, 喷以 2% 香草醛硫酸乙醇溶液, 热风吹至斑点显色清晰。结果供试品溶液②与甘草供试品溶液在相同位置显相同颜色的斑点。

2.3 含量测定

2.3.1 色谱条件 岛津 VP-ODS 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水(50: 50), 流速 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 检测波长 322 nm, 柱温 30 °C, 进样量 $20 \mu\text{L}$ 。此条件下蛇床子素能与其他组分达到基线分离, 阴性无干扰, 峰理论板数按蛇床子素峰计算不低于 5 000。结果见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 蛇床子素

图 1 蛇床子素 HPLC

2.3.2 线性关系考察 精密吸取蛇床子素对照品溶液各 2, 5, 10, 15, 20 μL , 按上述色谱条件进样测定, 以峰面积积分为纵坐标(Y), 对照品浓度为横坐标作图, 求得蛇床子素的回归方程为 $Y =$

25.341X - 9.833 ($r = 0.9997$)。

2.3.3 稳定性考察 取同一供试品溶液,分别于0,2,4,8,12,24,48 h 进行测定,测得峰面积,计算RSD 1.70%,供试品溶液在48 h 内稳定性良好。

2.3.4 精密度试验 精密吸取蛇床子素对照品溶液20 μL ,重复进样6次,测定各次峰面积,计算RSD 1.17%,仪器精密度良好。

2.3.5 重复性试验 取同一批独藤丸5份,按**2.1.2**项下方法制备供试品溶液,以样品中蛇床子素含量计算RSD 1.01%,该方法重复性良好。

2.3.6 加样回收率试验 精密吸取已知含量的独藤丸剂6份,加入一定量的蛇床子素对照品溶液,分别按**2.1.2**项下方法制备供试品溶液,按上述色谱条件进行分析测定,计算回收率,结果见表1。

表1 蛇床子素回收率试验

No.	取样量 /g	样品 含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1	1.0034	0.1465	0.1461	0.2893	97.74	99.57	2.309
2	1.0007	0.1461	0.1461	0.2923	100.07		
3	0.9996	0.1459	0.1461	0.2871	96.65		
4	1.0010	0.1461	0.1461	0.2964	102.87		
5	0.9992	0.1459	0.1461	0.2902	98.77		
6	0.9997	0.1460	0.1461	0.2940	101.30		

2.3.7 样品含量测定 分别精密吸取不同批次的独藤丸样品,按**2.1.2**项下方法制备供试品溶液,按**2.3.1**色谱条件进行分析测定,以外标法计算蛇床子素的含量。3批样品批号20111210,20120320,20120426的蛇床子素含量分别为0.1457,0.1463,0.1460 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,暂定本品蛇床子素含量不得低于0.1168 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (含量平均值下浮20%)。

3 讨论

独活为独藤丸的君药,主要含有香豆素类和挥发油类,还有少量甾醇、萜类和糖类等成分^[4]。笔者以香豆素类成分蛇床子素为主要活性成分指标,采用HPLC测定独藤丸中蛇床子素的含量,该方法简便、可靠、专属性强、重复性好,可用于独藤丸的质量标准研究^[6,7]。

对供试品的提取方法超声提取与加热回流提取法进行考察^[5],结果两法提取效率接近,因超声提取方法简便、快速,故采用超声提取法。超声提取制备供试品时,分别对超声提取时间、提取次数、提取功率进行了考察,发现超声提取30 min,功率300 W,提取2次,提取效率最高。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:941,280.
- [2] 闫雪生,李岩,郑亭亭. 桂枝茯苓微丸的质量标准研究[J]. 中华中医药学刊,2008,26(12):2555.
- [3] 章为,李文莉,丁野,等. 参苓健体散质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(2):83.
- [4] 林黎,钱晓萍,刘宝瑞. 中药独活的化学成分及其抗肿瘤活性的研究进展[J]. 现代肿瘤医学,2011,19(2):373.
- [5] 邓月婷,张喜民,任一杰,等. 元胡止痛滴丸质量标准的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(10):127.
- [6] 周斌,李雁霞,朱才庆,等. 抗平喘滴丸质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(1):43.
- [7] 阚红玉,赵卫春,孙玉侠,等. 藿香正气滴丸质量标准提高研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(1):72.

[责任编辑 顾雪竹]