

复骨胶囊的定性定量方法研究

韩军涛*, 刘运涛

(河南省洛阳正骨医院, 河南 洛阳 471002)

[摘要] 目的: 建立复骨胶囊的质量标准。方法: 利用薄层色谱鉴别方中药味大黄、白术和桂枝。利用 HPLC 法, C₁₈ 柱, 流动相甲醇-0.1% 磷酸水溶液, 检测波长 254nm, 测定方中君药大黄的主要成分大黄素和大黄酚的含量。结果: 薄层色谱鉴别方法简便, 专属性强; 大黄成分测定精密度、重复性、加样回收试验都符合含量测定要求。结论: 所用鉴别检测方法简单快捷、准确, 可以作为该制剂质量标准制定的依据。

[关键词] 复骨胶囊; 薄层鉴别; 高效液相色谱; 大黄素; 大黄酸

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2006)06-0020-02

复骨胶囊是我院研制的复方制剂, 主要由大黄(酒炒)、延胡索、桂枝、白术、香附、黄芪等中药组成, 功能活血行气, 补气健脾, 通络止痛。用于筋脉淤滞型股骨头缺血性坏死, 在我院应用以来疗效明显。本实验为建立该制剂的质量标准, 利用薄层色谱鉴别方中药味大黄、白术和桂枝, 应用 HPLC 法测定方中君药大黄中大黄素和大黄酚的含量, 为质量标准制定提供依据。现将结果报告如下:

1 仪器与试剂

定量毛细管(美国): TP500 超声波清洗机(北京天鹏电子新技术有限公司)。硅胶 G、硅胶 H(青岛海洋化工有限公司)。H54AR 电子天平(Mettler, 瑞士)。Agilent1100 高效液相色谱仪、二极管阵列检测器及工作站(美国安捷仑公司)。甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。蒸馏水为高纯水。大黄素对照品(0756-200110)、大黄酚对照品(0796-200208)和大黄酸对照品(0757-200206)(中国药品生物制品检定所)。大黄、白术、桂枝药材(本院药剂科提供, 经鉴定符合《中国药典》2000 年版一部项下有关规定)。复骨胶囊: 本院制剂科。

2 方法与结果

2.1 薄层鉴别

2.1.1 大黄的鉴别 取本品内容物 3g, 加水 30mL, 超声处理 20min, 离心, 取上清液, 加盐酸 3mL, 置水浴中加热 30min, 立即冷却, 用乙醚分 2 次提取, 每次

20mL, 合并乙醚液, 蒸干, 残渣加甲醇 1mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取大黄对照药材 0.2g, 同法制成对照药材溶液。再取大黄素、大黄酸对照品, 加甲醇制成 1mL 各含 1mg 的溶液, 作为对照品溶液。另取大黄阴性制剂 3g, 同法制成阴性对照液。吸取上述 5 种溶液各 4 μ L, 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 H 薄层板上, 以石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)-甲酸乙酯-甲酸(15: 5: 1)的上层液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯下(365nm)下检视, 供试品色谱中, 在与对照药材、对照品相应的位置上显相同的橙黄色荧光斑点。置氨气中熏后, 日光下检视, 斑点变为红色。阴性无干扰。

2.1.2 白术的鉴别 取本品内容物 3g, 加正己烷 10mL, 超声处理 15min, 滤过, 滤液挥干, 残渣加醋酸乙酯 1mL 使溶解, 做为供试品溶液。另取白术药材 0.5g 同法制成对照药材溶液。另取白术阴性制剂 3g, 同法制成阴性对照液。吸取上述 3 种溶液各 2 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)-醋酸乙酯(50: 1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 香草醛硫酸乙醇溶液, 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上显相同颜色的斑点, 并有一桃红色主斑点。阴性无干扰。

2.1.3 桂枝的鉴别 取本品 15g, 研细, 置烧瓶中, 加水适量, 连接挥发油提取器, 自上端加水至刻度, 再加石油醚(60~90 $^{\circ}$ C) 1mL, 连接冷凝器, 加热, 保持微沸 0.5h, 放冷, 取出石油醚层作为供试品溶液。另取桂枝阴性制剂 15g, 同法制得阴性对照溶液。再取

[收稿日期] 2005-08-18

[通讯作者] 韩军涛, Tel: 0379-63783515; E-mail: hjtly@sina.com

桂枝对照药材 0.5g, 加乙醚 10mL 浸泡 0.5h, 时时振摇, 滤过, 滤液挥干, 残渣加醋酸乙酯 1mL 使溶解, 作为对照品溶液。吸取上述 3 种溶液各 2 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)-醋酸乙酯(17:3)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以二硝基苯肼乙醇试液。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同的橘红色斑点。阴性无干扰。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件 Diamonsil C₁₈ 柱(200 \times 4.6mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-0.1% 磷酸溶液(85:15); 流速: 1mL/min; 检测波长 254nm; 柱温: 30 $^{\circ}$ C。大黄素和大黄酚分别在 6.6 min 和 8.7 min 出峰。以大黄素峰计, 理论塔板数大于 2500。

2.2.2 对照品溶液的制备 取大黄素、大黄酚对照品各 5mg, 精密称定, 各置 50 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 制成标准溶液。分别精密量取大黄素溶液 1 mL, 大黄酚溶液 2 mL 于 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得对照品溶液(每 1mL 含大黄素 0.0097 mg, 大黄酚 0.0202 mg)。

2.2.3 标准曲线绘制 分别精密吸取对照品溶液 5、10、15、20、25、30 μ L, 注入液相色谱仪, 分别平行进样两次, 分别以大黄素和大黄酚对照品的进样量为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程。大黄素: $Y=5757.4X-23.6$, $r=0.9999$ 。大黄酚: $Y=5130.2X-31.6$, $r=0.9999$ 。表明大黄素在 0.048~0.291 μ g, 大黄酚在 0.101~0.606 μ g 范围内呈良好线性关系。

2.2.4 供试品溶液的制备 取本品内容物, 研细, 精密称取 0.3g 于 50 mL 圆底烧瓶中, 加入 2.5 mol/L 硫酸溶液 15 mL 和氯仿 15 mL, 水浴加热回流 1 h, 分液, 取氯仿层, 再用氯仿萃取酸水层 2 次, 每次 10 mL, 合并萃取氯仿液, 水浴蒸干, 残渣用甲醇溶解并转移定容为 10 mL, 摇匀, 用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。同法制得缺大黄阴性溶液。

2.2.5 精密度试验 用同一供试品溶液按要求重复 5 次进样。结果大黄素峰面积 RSD=1.0%, 大黄酚峰面积 RSD=1.4%, 表明精密度符合要求。

2.2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液分别在 0, 2, 4, 6, 8 h 进样, 测得大黄素峰面积的 RSD=1.1%; 大黄酚峰面积的 RSD=1.3%, 表明样品溶液在 8h 内稳定。

2.2.7 重复性试验 取同一批供试品(批号 20041017) 5 份, 精密称定, 按 2.2.4 项下方法制备溶液, 进样测定, 计算含量及 RSD, 大黄素 RSD=2.1% 大黄酚 RSD=2.5%。

2.2.8 加样回收试验 取已知含量的供试品(批号 20041017) 5 份, 每份分别加入一定量的大黄素和大黄酚对照品(即大黄素标准溶液和大黄酚标准溶液各 1mL, 计大黄素 0.0970 mg, 大黄酚 0.1010 mg), 小心吹干, 按 2.2.4 项下方法制备溶液, 分别进样 10 μ L。计算, 平均回收率为大黄素 97.3%, RSD=2.1% ($n=5$); 大黄酚 96.4%, RSD=2.4% ($n=5$)。

2.2.9 样品测定 按 2.2.4 项下方法制备供试品溶液, 按上述色谱条件测定 4 批样品的含量, 进样 20 μ L, 平行进样 2 次。外标法计算, 结果见表 1。

表 1 复骨胶囊中大黄素和大黄酚含量测定结果($n=2$, mg/g)

产品批号	大黄素	大黄酚	总含量
20040306	0.193	0.326	0.519
20040522	0.205	0.317	0.523
20040713	0.197	0.316	0.513
20041017	0.213	0.344	0.557

3 讨论

实验中所采用的色谱鉴别方法操作简便, 有专属性, 鉴别项下阴性无干扰。

含量测定中参考文献[1, 2]中的供试品制备方法。测定方法简单快捷准确, 可以作为该制剂质量标准中有效成分含量的测定方法。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2000. 18-19.
- [2] 陶涛, 邢贞建. RP-HPLC 法测定开胸理气冲剂中大黄素和大黄酚的含量[J]. 中草药, 2004, 35(7): 767-768.