

# 筋骨痛消丸的质量标准研究

杜志谦, 江海肖, 夏华玲, 李军红, 吴雪峰 (河南省洛阳正骨研究所, 河南 洛阳 471002)

**摘要:** 采用薄层色谱法进行定性鉴别, 采用薄层扫描法测定丹参酮 II<sub>A</sub> 的含量。含量测定方法的平均回收率为 99.3%, RSD = 1.78% (n = 5)。

**关键词:** 筋骨痛消丸; 薄层扫描法; 丹参酮 II<sub>A</sub>

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2002)04-0013-03

## The Quality Standard of *Jingutongxiao* Pile

DU Zhi-qian, JIANG Hai-xiao, XIA Hua-ling, LI Jun-hong, WU Xuefeng  
(Luoyang zhenggu Institute of Henan, Luoyang, 471002, China)

**Abstract:** The TLC method was used to identify qualitatively of *Jingutongxiao* pile. The contents of Tanshenone II<sub>A</sub> were determined by TLC scanning method. The average recovery and RSD were 99.3% and 1.78% respectively.

**Key words:** *Jingutongxiao* pile; TLC scanning method; Tanshenone II<sub>A</sub>

筋骨痛消丸由丹参、秦艽、川牛膝、香附、桂枝等药味制成的浓缩丸, 具有活血行气、温经通络、消肿止痛作用, 用于治疗骨质增生引起的关节疼痛、肿胀、活动受限等症。该药是根据平乐郭氏正骨经验方研制的中药三类新药, 生产批准文为(97)卫药准字 Z-106 号。采用薄层色谱法鉴别香附和  $\alpha$ -香附酮、秦艽、川牛膝、桂枝和桂皮醛; 丹参为其君药, 丹参酮 II<sub>A</sub> 是丹参中主要有效成分, 测定丹参酮 II<sub>A</sub> 含量对该药物的质量控制具有实际意义, 采用薄层扫描法测定丹参酮 II<sub>A</sub> 的含量。为筋骨痛消丸的质量标准提供了定性和定量的检测方法。

## 1 仪器与试剂

**1.1 仪器** CS-9301 型薄层扫描仪(日本岛津公司); H<sub>54</sub>AR1/10 万分析天平(瑞士); 定量毛细管(美国)。

**1.2 对照品与材料** 丹参酮 II<sub>A</sub> (定量用)、 $\alpha$ -香附酮、桂皮醛对照品(购于中国药品生物制品检定所); 硅胶 G、硅胶 GF<sub>254</sub> (青岛海洋化工厂); 高效硅胶 G 板(20 × 10cm) (烟台化工厂); 所用试剂均为分析纯。

**1.3 样品** 筋骨痛消丸(由河南省洛正制药厂提供)。

**1.4 定性用药材** 定性用药材经河南省药品检验所李振国副主任药师鉴定分别是:

香附为莎草科植物莎草 *Cyperus Rotundus* L. 的根茎; 秦艽为龙胆科植物小秦艽 *Gentiana Dahurica* Fish. 的根; 川牛膝为苋科植物川牛膝 *Cyathula Officinalis* Kuan 的根; 桂枝为樟科植物肉桂 *Cinnamomum Cassia* Presl 的嫩枝。

**1.5 阴性对照溶液** 按处方药味除去被检测药材, 其余药味按成药的生产工艺及供试品溶液的制备方法制备, 即得。

## 2 方法和结果

### 2.1 薄层色谱鉴别试验

**2.1.1 香附和  $\alpha$ -香附酮的鉴别** 取本品 5g, 研细, 加 20ml 乙醚, 密塞, 浸泡 1h, 时加振摇。滤过, 滤液蒸干乙醚, 残渣加 2ml 醋酸乙酯使溶解, 作为供试品溶液。另取香附药材粉末 1g, 同法制成药材溶液。再取  $\alpha$ -香附酮对照品, 加醋酸乙酯制成每 1ml 含 1 $\mu$ l 的溶液, 作为对照品溶液。吸取上述 3 种溶液及香附阴性对照溶液各 2 $\mu$ l, 分别点于同一硅胶 GF<sub>254</sub> 薄层板上, 以石油醚(60~90℃)-醋酸乙酯(15:1)为展开剂, 展开, 展距 8cm, 取出, 晾干, 置紫外灯(254nm)下检视。供试品色谱中, 在与香附药材及对照品色谱相应的位置上显相同的暗蓝色斑点; 阴性对照品色谱相应的位置上无斑点。

**2.1.2 秦艽的鉴别** 取本品 2g, 研细, 加 5% 氨水乙醇溶液 20ml, 密塞, 浸泡 3h, 时加振摇, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加 5ml 甲醇使溶解, 滤过, 滤液作为供试品溶液。另取小秦艽药材 1g, 同法制成药材溶液。吸

取上述 2 种溶液和秦艽阴性对照溶液各 2 $\mu$ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以苯-氯仿-丙酮-异丙醇(8:4:1:1)为展开剂, 展开, 展距 8cm, 取出, 晾干, 置紫外灯(365nm)下检视。供试品色谱中, 在与小秦艽药材色谱相应的位置上, 显相同的绿色荧光斑点; 阴性对照品色谱相应的位置上无斑点。

**2.1.3 川牛膝的鉴别** 取本品 2g, 研细, 加 75% 乙醇溶液 40ml, 回流提取 1h, 滤过, 滤液回收乙醇并蒸干。残渣加 5ml 水使溶解, 水溶液用 10ml 乙醚振摇提取一次, 提取液蒸干乙醚。残渣加无水乙醇 5ml 使溶解, 作为供试品溶液。另取川牛膝药材 1g, 同法制成药材溶液。吸取上述 2 种溶液及川牛膝阴性对照溶液各 2 $\mu$ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以苯-氯仿-丙酮(8:4:1)为展开剂, 展开, 展距 8cm, 取出, 晾干, 置紫外灯(365nm)下检视。供试品色谱中, 在与川牛膝药材色谱相应的位置上, 显相同的蓝色荧光斑点; 阴性对照品色谱相应的位置上无斑点。

**2.1.4 桂枝和桂皮醛的鉴别** 取本品 5g, 研细, 移入 500ml 圆底烧瓶中, 加水 200ml 与玻璃珠数粒, 混匀, 连接挥发油测定器( $d < 1$ ), 自测定器上端加水至刻度, 并溢流入烧瓶时为止, 再加石油醚(60~90 $^{\circ}$ C) 5ml, 连接回流冷凝管, 加热至沸, 并保持微沸 0.5h, 放冷, 取石油醚层作为供试品溶液。另取桂枝药材粉末 2g, 同法制成药材溶液。再取桂皮醛对照品, 加石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)制成每 1ml 含 1 $\mu$ l 的溶液, 作为对照品溶液。吸取上述 3 种溶液和桂枝阴性对照溶液各 2 $\mu$ 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, 展距 8cm, 取出, 晾干, 喷以二硝基苯胍乙醇溶液。供试品色谱中, 在与桂枝药材及对照品色谱相应的位置上, 显相同的桔红色斑点; 阴性对照品色谱相应的位置上无斑点。

## 2.2 丹参酮 II<sub>A</sub> 的含量测定

**2.2.1 对照品溶液的制备** 精密称取丹参酮 II<sub>A</sub> 对照品适量, 加无水乙醇溶解, 稀释并制成每 1ml 含 0.2mg 的溶液, 即得。

**2.2.2 供试品溶液的制备<sup>[1]</sup>** 取本品研细, 称取约 5g, 精密称定, 置索氏提取器中, 加乙醚适量, 置 50 $^{\circ}$ C 水浴上, 回流提取 3h, 提取液回收乙醚至干, 残渣加无水乙醇使溶解, 定量转移至 10ml 容量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

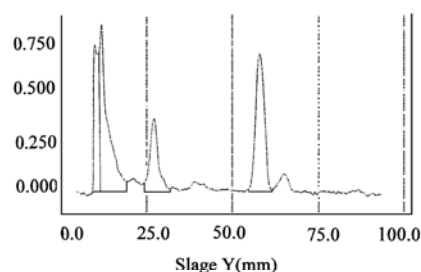
**2.2.3 薄层层析与扫描** 分别吸取供试品溶液 4 $\mu$ l, 对照品溶液 2 $\mu$ l 和 6 $\mu$ l, 交叉点于同一高效硅胶

G 板上, 以苯-氯仿-醋酸乙酯(10:2:0.5)为展开剂, 展开, 展距 9cm, 取出, 晾干。按  $\lambda = 470\text{nm}$ ,  $S_x = 3$  进行单波长反射式锯齿扫描, 根据峰面积积分值, 以外标两点法计算丹参酮 II<sub>A</sub> 的含量。

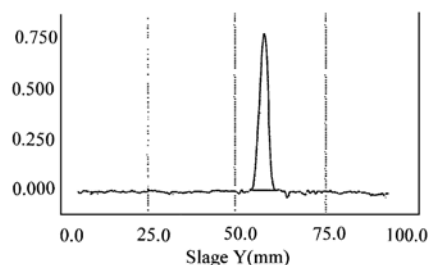
### 2.2.4 方法学考察

(1) 专属性考察 分别精密吸取对照品溶液 6 $\mu$ l, 供试品溶液 4 $\mu$ l, 丹参阴性样品溶液 4 $\mu$ l, 按上述方法进行薄层层析与扫描。结果薄层色谱中丹参阴性样品在丹参酮 II<sub>A</sub> 相应的位置上无色谱斑点, 丹参阴性样品对丹参酮 II<sub>A</sub> 峰不存在干扰。

a 筋骨痛消丸供试品的薄层扫描图谱



b 丹参酮 II<sub>A</sub> 对照品的薄层扫描图谱



(2) 线性关系考察 精密吸取丹参酮 II<sub>A</sub> 对照品溶液(0.2mg/ml) 0.5、1、2、4、6、8 $\mu$ l, 与高效硅胶 G 板上数对技术<sup>[2]</sup>上样, 按拟定方法展开、扫描。以峰面积积分值  $Y$  为纵坐标, 点样量  $X$  ( $\mu$ g) 为横坐标, 进行回归分析, 回归方程为  $Y = 2420.08X + 155.44$ ,  $r = 0.9992$ 。线性化范围 0.1~1.6 $\mu$ g。

(3) 稳定性考察 按上述方法试验, 薄层展开, 晾干后, 每隔 15min 扫描测定对照品和供试品中丹参酮 II<sub>A</sub> 峰面积积分值, 结果, 1h 内峰面积稳定。

(4) 精密度考察 仪器精密度: 薄层板上点一个对照品, 按拟定方法展开, 扫描 10 次, 结果  $RSD = 0.32\%$ 。点样精密度: 在同一薄层板上点 10 个同一浓度的对照品, 按拟定方法展开, 扫描, 结果  $RSD = 1.2\%$ 。

(5) 重现性考察: 同批产品称取 8 份, 分别按拟定方法测定, 结果  $RSD = 3.53\%$ 。

(6) 加样回收试验 取已知含量为 0.513mg/g 的

同一批样品粉末 5 份,精密称定。加入精密称定的丹参酮 II<sub>A</sub> 对照品,按含量测定项下的方法制备供试液、测定,计算回收率,结果见表 1。

表 1 丹参酮 II<sub>A</sub> 加样回收率测定结果

样品量 (g)	加入丹参酮 II <sub>A</sub> 量(mg)	样品中丹参酮 II <sub>A</sub> 量(mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)
3.2197	2.31	1.65	4.01	102.2
4.1405	1.72	2.12	3.83	99.4
4.0369	1.34	2.07	3.38	97.8
2.9923	2.27	1.54	3.79	99.1
2.1033	2.41	1.08	3.44	97.9
5.0140	0	0.513mg/g		

平均回收率为 99.3%, RSD= 1.78%

(7) 样品含量测定 按上述方法测定 20 批产品的含量,结果见表 2。

表 2 筋骨痛消丸中丹参酮 II<sub>A</sub> 含量测定结果(按干燥品计)(n= 3)

批号	含量 (mg/g)	RSD (%)	批号	含量 (mg/g)	RSD (%)
980104	0.342	2.52	990329	0.375	4.08
980116	0.431	3.08	990402	0.391	2.74
980312	0.374	4.23	990416	0.338	3.47
980327	0.382	3.24	990419	0.363	3.43
980402	0.431	3.68	990524	0.350	2.98
980411	0.542	3.92	990526	0.371	3.64
981008	0.388	4.54	990603	0.361	3.82
981012	0.368	3.56	990615	0.349	4.03
981029	0.372	3.67	990623	0.367	2.76
981113	0.344	3.92	990709	0.364	4.14

#### 4 讨论

4.1 通过薄层色谱法定性鉴别该药物中香附和 α-香附酮、秦艽、川牛膝、桂枝和桂皮醛,方法简便、专属性强、重复性好。秦艽主要含生物碱类成分,制备

供试品溶液参考文献<sup>[3]</sup>方法,采用碱性乙醇为溶媒,提取效果好。桂枝主要含挥发油,挥发油中主要成分是桂皮醛,曾利用水蒸汽蒸馏法和乙醇浸泡法制备供试品溶液,但方法简便性、分离效果均不如应用挥发油测定器蒸馏法<sup>[4]</sup>制备供试品溶液。

4.2 含量测定条件的选择 应用薄层扫描法测定丹参或制剂中丹参酮 II<sub>A</sub> 的含量,所使用扫描波长有紫外区 270nm,可见区 450~ 500nm<sup>[5]</sup>,紫外区波长扫描灵敏度高,但干扰多,丹参酮 II<sub>A</sub> 为红色斑点,应用可见区波长测定,可排除其它成分干扰;该方法使用的展开剂经试验验证该展开系统在 0~ 37℃ 不同温度下丹参酮 II<sub>A</sub> R<sub>f</sub> 值为 0.60~ 0.67;在相对湿度 32%~ 88%,丹参酮 II<sub>A</sub> R<sub>f</sub> 值为 0.52~ 0.64。

4.3 20 批产品丹参酮 II<sub>A</sub> 的平均含量为 0.380mg/g,下浮 10% 作为含量下限,即按干燥品计算样品 1g 含丹参酮 II<sub>A</sub> 应不低于 0.34mg。丹参所含的主要成分丹参酮 II<sub>A</sub> 化学性质不稳定,生产过程中受热易分解,为提高产品中丹参酮 II<sub>A</sub> 含量,保证产品质量,生产中应用野生丹参药材,并规定丹参原料药中丹参酮 II<sub>A</sub> 含量不得少于 0.26%。

4.4 该质量标准已用于近 100 批产品的质量检测,方法简便,重现性强,可有效控制产品质量。

#### 参考文献:

- [ 1 ] 许保军,杜志谦,杜兴亚,等. 养血止痛丸中丹参酮 II<sub>A</sub> 和隐丹参酮的薄层扫描定量法[J]. 中药新药与临床药理, 1993, 4(1): 43.
- [ 2 ] A. 茨拉脱坎斯, R. E. 卡爱塞, 林珍安, 等. 高效薄层色谱[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1984. 152-154.
- [ 3 ] 蔡宝蕴. 秦艽生物碱提取新工艺[J]. 中草药, 1986, 17(3): 16.
- [ 4 ] 王宝棻. 中成药质量标准与标准物质研究[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1994. 18.
- [ 5 ] 崔艳萍. 丹参制剂中有效成分测定方法的研究进展[J]. 中草药, 1996, 27(87): 503.