

萨热十三味鹏鸟丸质量标准

张妍¹, 丁永辉^{2*}, 倪琳³, 杨锡³

(1. 兰州大学药学院, 兰州 730000; 2. 甘肃省食品药品监督管理局,
兰州 730000; 3. 甘肃省食品药品检验所, 兰州 730000)

[摘要] 目的: 建立萨热十三味鹏鸟丸的质量标准。方法: 用薄层色谱法对木香、藏菖蒲、沉香、甘草、麝香进行定性鉴别; 用高效液相色谱法对诃子中没食子酸进行含量测定。结果: 没食子酸在 0.242 5~3.637 5 μg 呈良好的线性关系 ($r = 0.999\ 7$), 平均加样回收率为 99.31%, RSD 1.80% ($n = 9$)。结论: 方法专属性好, 灵敏度高, 可用于萨热十三味鹏鸟丸的质量控制。

[关键词] 萨热十三味鹏鸟丸; 没食子酸; 薄层色谱; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)24-0049-03

Study on Quality Standard for Sare Shisanwei Pengniao Pills

ZHANG Yan¹, DING Yong-hui^{2*}, NI Ling³, YANG Xi³

(1. School of Pharmacy, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China;

2. Gansu Food and Drug Administration, Lanzhou 730000, China;

3. Gansu Institute for Food and Drug Control, Lanzhou 730000, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the quality standard of Sare Shisanwei Pengniao Pills. **Method:** Radix Aucklandiae, Rhizoma Acori Calami, Lignum aquilariae Resinatum, Radix et Rhizoma Glycyrrhizae, Moschus were identified by TLC. Gallic acid content in Fructus Chebulae was determined by HPLC. **Result:** The gallic acid showed good linear relationship ($r = 0.999\ 7$) in the range of 0.242 5~3.637 5 μg . The average recovery was 99.31% with RSD 1.80% ($n = 9$). **Conclusion** This method has a strong specificity, high sensitivity and can be used in quality control of the Sare Shisanwei Pengniao pill.

[Key words] Sare Shisanwei Pengniao pills; gallic acid; TLC; HPLC

藏药萨热十三味鹏鸟丸(藏文读音: 萨热恰琼久松日布)由木香、诃子、沉香等药材组成, 具有消炎止痛、通经活络、醒脑开窍之功效, 临床上用于中风及“白脉病”引起的口眼喎斜、麻木瘫痪、四肢关节不利、脉管炎、腱鞘炎、麻风等^[1]。其标准项下没有鉴别项和含量测定项。为更好控制产品质量, 本实验用 TLC 法对方中 8 味药材进行了鉴别及检查, 采

用 HPLC 对丸剂中没食子酸进行了含量测定。

1 材料

1.1 仪器 薄层成像系统(瑞士 CAMAG), KQ-250B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), LC-2010A 型高效液相色谱仪(日本岛津), UV-2401PC 紫外-可见分光光度计(日本岛津)。

1.2 试药 木香对照药材(批号 12091-200506)、藏菖蒲对照药材(批号 1084-9901)、沉香对照药材(批号 121222-200301)、甘草对照药材(批号 120904-200511)、麝香对照药材(批号 0982-9602)、没食子酸对照品(供含量测定用, 批号 110831-200302)均购自中国药品生物制品检定所, 萨热十三味鹏鸟丸(批号 20090931, 20090932, 20090933)及阴性对照样品

[收稿日期] 20110617(009)

[基金项目] 国家药典委员会(国药典综发[2010]35 号)

[第一作者] 张妍, 在读硕士研究生, 研究方向为药物分析,
Tel: 15002665765, E-mail: bloom77@163.com

[通讯作者] * 丁永辉, 主任药师, 硕士生导师, E-mail:
dingyonghui@gsda.gov.cn

均由青海金诃藏药药业股份有限公司提供,硅胶 G (青岛海洋化工厂分厂)。甲醇为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

2 薄层定性鉴别

2.1 木香^[2] 取本品研细粉末 5 g,加氯仿 20 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液作为供试品溶液。另取缺木香的阴性对照品 5 g 及木香对照药材 1 g,同法分别制成阴性对照溶液和对照药材溶液。照薄层色谱法试验,吸取上述 3 种溶液各 5 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-环己烷(5:1)为展开剂,展开,取出,晾干。喷以 5% 香草醛硫酸试液,在 105 $^{\circ}$ C 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。

2.2 藏菖蒲^[2] 取本品研细粉末 5 g,加乙醇 20 mL,加热回流 20 min,放冷,滤过,滤液作为供试品溶液。另取缺藏菖蒲的阴性对照品 5 g 及藏菖蒲对照药材 1 g,同法分别制成阴性对照溶液和对照药材溶液。照薄层色谱法试验,吸取上述 3 种溶液各 5 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿为展开剂,展开,取出,晾干。喷以 10% 硫酸乙醇试液,在 105 $^{\circ}$ C 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。

2.3 沉香^[3] 取本品研细粉末 5 g,加乙醚 30 mL,超声处理 10 min,滤过,滤液蒸干,残渣加氯仿 2 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取缺沉香的阴性对照品 5 g 及沉香对照药材 0.5 g,同法分别制成阴性对照溶液和对照药材溶液。照薄层色谱法试验,吸取上述 3 种溶液各 5 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-乙醚(10:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外灯(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。

2.4 甘草^[4] 取本品研细粉末 10 g,加乙醚 50 mL,加热回流 1 h,滤过,弃去乙醚液,药渣加甲醇 30 mL,加热回流 1 h,滤过,滤液蒸干,残渣加水 40 mL 使溶解,用水饱和的正丁醇提取 3 次,每次 20 mL,合并正丁醇液,用正丁醇饱和的水洗涤 3 次,每次 10 mL,弃去水液,将正丁醇液蒸干,残渣加甲醇 5 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取缺甘草的阴性对照品 10 g 及甘草对照药材 1 g,同法分别制成阴性对照溶液和对照药材溶液。照薄层色谱法试验,分别吸取上述 3 种溶液各 5 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层

板上,以乙酸乙酯-甲酸-冰醋酸-水(15:1:1:2)为展开剂,展开,取出,晾干。喷以 10% 硫酸乙醇试液,在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色,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。

2.5 麝香 取本品研细粉末 20 g,加入石油醚(30~60 $^{\circ}$ C) 30 mL,超声 20 min,滤过,滤液挥干,残渣加甲醇 2 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取缺麝香的阴性对照品 20 g 同法制成阴性对照溶液。再取麝香对照药材 0.2 g,加乙醚 1 mL 制成对照药材溶液。照薄层色谱法试验,吸取供试品及阴性对照溶液各 5 μ L,对照药材溶液 12 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(9.5:0.5)为展开剂,展开,取出,晾干。喷以 5% 香草醛硫酸试液,在 105 $^{\circ}$ C 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,显相同的颜色斑点。

3 没食子酸含量测定^[5-6]

3.1 溶液的制备

3.1.1 对照品 精密称取没食子酸对照品 24.25 mg,置于 100 mL 量瓶中,加 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,即得 0.242 5 g $\cdot$ L⁻¹ 的对照品溶液。

3.1.2 供试品 取本品研细,精密称取 1 g,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇 50 mL,称定质量,超声处理 40 min(频率 50 kHz,功率 250 W),放冷,再称定质量,用 50% 甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液用微孔滤膜(0.45 μ m)滤过,即得。

3.1.3 阴性供试品 取按处方除去诃子的阴性样品,按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。

3.2 色谱条件与系统适用性 Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm $\times$ 250 mm 5 μ m),甲醇-0.2% 磷酸水溶液(8:92)为流动相,流速 1 mL $\cdot$ min⁻¹,柱温 35 $^{\circ}$ C,检测波长 273 nm。见图 1。

3.3 线性关系考察 分别精密吸取没食子酸对照品溶液(0.242 5 g $\cdot$ L⁻¹) 1,2,5,10,12,15 μ L 注入液相色谱仪,并以峰面积(A)为纵坐标,进样量(C)为横坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $A = 2.7548 \times 10^6 C + 1.0448 \times 10^5$ ($r = 0.9997$),没食子酸在 0.242 5~3.637 5 μ g 与峰面积呈良好的线性关系。

3.4 重复性试验 取同一批号样品(批号 20090931)6 份,按 3.1.2 项下的方法制备供试品溶液,按上述色谱条件进行测定结果没食子酸含量的

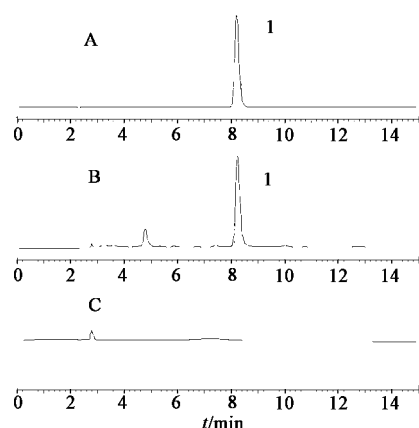


图1 萨热十三味鹏鸟丸对照品(A)、
样品(B)及阴性样品(C) HPLC

平均值为 $11.80 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 1.77%。

3.5 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 $5 \mu\text{L}$, 分别于 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24 h 进样测定, 测得没食子酸峰面积的 RSD 为 0.70%。

3.6 精密度试验 精密吸取没食子酸对照品溶液 ($0.2425 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) $5 \mu\text{L}$, 连续进样 6 次, 测得没食子酸峰面积的 RSD 为 0.25%。

3.7 加样回收率试验 取已知含量的供试品(批号 20090931)约 0.5 g 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 分别精密加入没食子酸对照品溶液 ($0.3015 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 15, 20, 25 mL, 加 50% 甲醇至 40 mL, 超声处理 40 min, 放冷, 加 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 按上述色谱条件进行测定, 计算回收率, 平均回收率 99.31% RSD 1.80%, 见表 1。

表1 萨热十三味鹏鸟丸中没食子酸加样回收试验

取样量 /g	样品中含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%
0.5009	5.9106	4.5225	10.4498	100.37
0.5017	5.9201	4.5225	10.4982	101.23
0.5015	5.9177	4.5225	10.3669	98.38
0.5003	5.9035	6.0300	11.7249	96.54
0.5114	6.0345	6.0300	11.9138	97.50
0.5053	5.9625	6.0300	11.8912	98.32
0.5022	5.9260	7.5375	13.5781	101.52
0.5017	5.9201	7.5375	13.3739	98.89
0.5048	5.9566	7.5375	13.5740	101.06

3.8 样品测定 取 3 个批号的样品, 按 3.1.2 项下的方法制成供试品溶液。精密吸取对照品溶液和供

试品溶液各 $5 \mu\text{L}$, 以外标法计算样品中没食子酸的含量分别为 $11.81, 11.75, 11.84 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

4 讨论

对方中麝香进行薄层鉴别研究, 用乙醚超声提取后在①甲苯, ②环己烷-甲苯 (1:1), ③石油醚 ($60 \sim 90^\circ\text{C}$) - 乙醚 - 甲苯 (20:1:5) 不同的展开系统下喷以 2, 4-二硝基苯肼显色, 均未有良好效果。后采用将显色剂加入供试品溶液中直接显色的方法, 略有改变, 且以②的结果最好, 但尚未达到理想要求。后改用石油醚进行提取, 用香草醛硫酸作为显色剂, 效果较好, 在试验了不同配比的展开剂之后, 最终确立石油醚 ($60 \sim 90^\circ\text{C}$) - 乙酸乙酯 (9.5:0.5) 作为展开剂。

由于藏成药处方大多药味多而处方量小, 有效成分不明确, 且常见动物药和矿物药, 因此不能完全按照中药的君、臣、佐、使原则对方方的关键药材加以质量控制^[6]。文献^[7]报道诃子在藏药中被称为“众药之王”, 能祛风、痰、寒, 行气活血、镇静解毒。临床应用非常广泛, 尤其对心脏有直接保护作用, 进而对抗乌头碱对心的毒性, 故选择诃子中主成分没食子酸作为含量测定的指标成分。

在流动相的选择中, 曾考察不同比例的甲醇-0.2% 磷酸水系统 (15:85, 10:90, 8:92), 结果比例为 8:92 时, 没食子酸与其他组分均能达到基线分离, 且与相邻色谱峰的分度度 > 1.5 , 故选其为流动相。

【参考文献】

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准藏药[S]. 1995:333.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2005.
- [3] 关斌. 沉香以及混淆品的简易鉴别研究[J]. 中草药, 2000, 31(7):558.
- [4] 倪琳, 杨锡, 郭朝晖, 等. 妇女养血丸质量标准研究[J]. 中成药, 2008, 30(6):872.
- [5] 丁家欣, 张秋海, 李淑莉, 等. HPLC 测定虎耳草中没食子酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(3):19.
- [6] 张敏娟, 甘青梅. HPLC 法测定达斯玛保丸中没食子酸含量[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(6):980.
- [7] 潘燕, 张述禹, 侯金凤. 诃子对乌头碱致心肌细胞损伤的影响[J]. 中国民族医药杂志, 2002, 8(1):32.

[责任编辑 蔡仲德]