青娥丸质量控制的实验研究

甄汉深　辛宁　陈勇　陆云萍*
(广西中医学院　南宁 530001)

摘要　采用薄层色谱法对青娥丸进行定性研究,并采用薄层扫描法测定其补骨脂素和异补骨脂系的含量。

关键词　青娥丸　薄层色谱　补骨脂素　异补骨脂素　薄层扫描

青娥丸收载于历版《中国药典》,由杜仲(盐炒)、补骨脂(盐炒)、核桃仁(炒)、大蒜组成。具有补肾强腰之功效。其质量标准仅有显微定性项目[1]。本文用 TLC 法对方中 4 味中药分别进行定性鉴别,并用 TLCS 法测定其有效成分补骨脂素和异补骨脂素含量,效果满意。

1　材料与仪器

原药材　经本院周子静教授鉴定,杜仲为杜仲科植物杜仲 *Eucommia ulmoides* Oliv.的干燥树皮;补骨脂为豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* L.的干燥成熟果实;大蒜为百合科植物蒜 *Allium sativum* L.的干燥鳞茎;核桃仁为胡桃科植物胡桃 *Juglans regia* L.的干燥成熟种子。

样品　青娥丸(本院制备)。

对照品　补骨脂素、异补骨脂素(中国药品生物制品检定所)。

硅胶 G(青岛海洋化工厂产品)。试剂均为分析纯。

仪器　CS - 9000 双波长飞点快速扫描仪(日本岛津);定量毛细管(美国)。

2　方法与结果

2.1　TLC 定性鉴别

2.1.1　补骨脂鉴别

样品供试液制备　称取青娥丸粉末约 2g,加氯仿 20 ml 冷浸过夜,滤过,滤液浓缩至 5 ml 备用。

阳性对照液制备　称取补骨脂药材粉末约 0.5g,加氯仿 20 ml 冷浸过夜滤过,滤液浓缩至 5 ml 备用。

阴性对照液制备　称取除补骨脂外青娥丸模拟丸粉末约 1.5g,制法同上。

化学对照品溶液制备　取补骨脂素、异补骨脂素适量,分别加无水乙醇 5 ml 溶解备用。

操作方法　用毛细管分别吸取上述 5 种溶液,点于同一块硅胶 G(0.7%CMC-Na)薄层板上,以苯-乙酸乙酯(9.5∶0.5)为展开剂展开,展距 15cm,晾干后于紫外光 365nm 处观察,结果样品与化学对照品、阳性对照品在相同位置上显相同颜色荧光斑点,详见图 1。

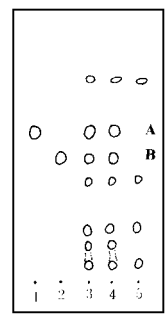

图 1　青娥丸中补骨脂 TLC 图谱

1.异补骨脂素对照液　2.补骨脂素对照液　3.样品供试液　4.阳性对照液　5.阴性对照液　A.浅淡蓝色　B.浅蓝色

2.1.2　杜仲鉴别

样品供试液制备　称取青娥丸粉末约 2g,加无水乙醇 25 ml 冷浸过夜,滤过,滤液浓缩至 5 ml 备用。

阳性对照液制备　称取杜仲原药材粉末约 1g,制法同上。

阴性对照液制备　称取除杜仲外的青娥丸模拟丸粉末约 1g,制法同上。

操作方法　用毛细管分别吸取上述 3 种溶液点于同一块硅胶 G(0.7%CMC-Na)薄层板

* 广西忻城县人民医院　忻城 546200

上,以正丁醇-36%醋酸-水(6∶1∶3)为展开剂展开,展距15cm,晾干后于紫外光灯365nm观察。结果样品与阳性对照品在相同位置上显相同颜色荧光斑点,详见图2。

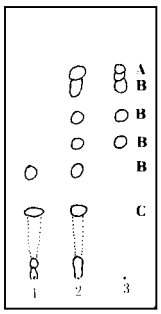

图2　青娥丸中杜仲TLC图谱

1.阳性对照液　2.样品供试液　3.阴性对照液

A.浅黄色　B.浅淡蓝色　C.亮黄绿色

2.1.3　大蒜鉴别

样品供试液制备　称取青娥丸粉末约4g,加氯仿25ml冷浸过夜,滤过,滤液浓缩至5ml备用。

阳性对照液制备　称取大蒜原药材粉末约0.5g,加氯仿25ml冷浸过夜,滤过,滤液浓缩至5ml备用。

阴性对照液制备　称取除大蒜外的青娥丸模拟丸粉末约3.5g,制备同上。

操作方法　用毛细管分别吸取上述3种溶液点于同一块硅胶G(0.7%CMC-Na)薄层板上,以正己烷为展开剂展开,展距10cm,晾干后于碘蒸气中显色,结果样品与阳性对照品在相同位置上均显相同的黄颜色斑点,详见图3。

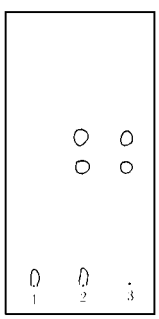

图3　青娥丸中大蒜TLC图谱

1.阴性对照液　2.样品供试液　3.阳性对照液

2.1.4　核桃仁鉴别

样品供试液制备　称取青娥丸粉末约4g,加20ml石油醚(30~60℃),冷浸过夜,滤过,滤液浓缩至5ml备用。

阳性对照液制备　称取核桃仁原药材粉末约1g,制法同上。

阴性对照液制备　称取除核桃仁外的青娥丸模拟丸粉末约3.4g,制法同上。

操作方法　用毛细管吸取上述3种溶液,点于同一硅胶G(0.7%CMC-Na)薄层板上,以正己烷-乙酸乙酯(4∶1)为展开剂展开,展距15cm,晾干后于碘蒸气中显色,结果样品与阳性对照品在相同位置上均显相同的黄颜色斑点,详见图4。

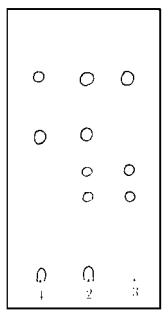

图4　青娥丸中核桃仁TLC图谱

1.阴性对照液　2.样品供试液　3.阳性对照液

2.2　补骨脂素、异补骨脂素含量测定

2.2.1　样品液制备

精密称取60℃干燥5h的青娥丸粉末(过80目筛)约2g,于索氏提取器中,以氯仿回流提取至无色,提取液浓缩定容于10ml容量瓶中。

2.2.2　对照液制备

分别精密称取补骨脂素、异补骨脂素对照品适量,分别加95%乙醇溶解,定容,制成0.3248mg/ml补骨脂素对照液;0.3960mg/ml异补骨脂素对照液。

2.2.3　层析条件

取硅胶G加0.7%CMC-Na(1∶3),以电动搅拌器搅匀后,用自动铺板器铺板(10cm×20cm×0.5mm),晾干,于105℃活化1h,置干燥器中备用。

2.2.4　薄层定性

在同一薄层板上分别点对照液和样品液适量,按**2.1.1**条件展开、晾干、观察。

2.2.5 扫描条件选择

将薄层色谱置于扫描仪上,在 200~370nm 波长处对特征斑点进行光谱扫描。结果采用补骨脂素为 $\lambda_S = 297nm$, $\lambda_R = 360nm$;异补骨脂素为 $\lambda_S = 300nm$, $\lambda_R = 360nm$,双波长反射法锯齿扫描。

2.2.6 线性关系考察

用定量毛细管分别精密吸取补骨脂素对照液 1,2,3,4,5μl 点样,按上述条件展开,扫描,测定其峰面积,得回归方程为:Y = 17329.6X + 5693.2, $r = 0.9992$。

同法测定异补骨脂素,得回归方程为:Y = 18406.4X + 14331.6, $r = 0.9995$。

2.2.7 精密度试验

同一斑点连续扫描 5 次,RSD = 0.63%;同一样品在同一薄层不同位置点样测 5 次,补骨脂素 RSD = 1.08%,异补骨脂素 RSD = 1.14%;同一样品在不同薄层上点样测 5 次,补骨脂素 RSD ≤ 2.60%,异补骨脂素 RSD ≤ 2.63%。

2.2.8 稳定性试验

取对照液点样,展开,晾干,从晾干后 15min 起测定,每隔 0.5h 测定 1 次,直至 4h,测得峰面积基本不变,补骨脂素 RSD = 0.96%($n = 9$);异补骨脂素 RSD = 0.88%($n = 9$)。说明两者至少在 4h 内稳定。

2.2.9 样品测定

用定量毛细管分别精密吸取样品液 4μl,对照液 2,3μl,点于同一块薄层板上,按上述条件展开,晾干,定位,扫描测定其峰面积,按外标两点法计算,结果见表 1。

2.2.10 加样回收率测定

分别精密称取补骨脂素、异补骨脂素对照品适量加入样品中,按样品测定项下方法进行测定,结果见表 2。

表 1 青娥丸中补骨脂素、异补骨脂素的含量 %

样品批号	补骨脂素		异补骨脂素	
	$\bar{x}$	RSD	$\bar{x}$	RSD
950201	0.1049	2.55	0.1147	2.63
950202	0.1097	2.60	0.1157	2.71
950203	0.1037	2.22	0.1125	1.23
950204	0.0996	1.77	0.1057	2.29
950205	0.1004	1.51	0.1080	1.87

注:$n = 4$

表 2 加样回收率测定

成分	含量 mg	测得量 mg	回收率 %	$\bar{x}$ %	RSD %
补骨脂素	1.2071	1.8509	99.11		
	1.2224	1.8750	100.46		
	1.2265	1.8807	100.71	99.89	1.02
	1.1923	1.8321	98.49		
	1.1945	1.8485	100.68		
异补骨脂素	1.2985	2.0745	97.98		
	1.3149	2.1013	99.29		
	1.3193	2.1051	99.22	99.33	1.0
	1.2826	2.0694	99.34		
	1.2850	2.0834	100.81		

注:加入量补骨脂为 0.6496mg;异补骨脂素为 0.7920mg

3 讨论

3.1 对杜仲、大蒜、补骨脂和核桃仁的薄层鉴别均分别采用多种展开剂,结果均不如本系统专属性强,斑点明显。

3.2 青娥丸的定量方法未见报道。本法简单、方便,补骨脂素和异补骨脂素能很好地分离,并能排除方中其他药的干扰。加样回收率测定结果表明本法可行。

4 参考文献

1 中国药典.一部.1995:518

1996—04—03 收稿