

司,批号:140701、140101,规格:56 ml/瓶;湖北襄阳隆中药业有限公司,批号:140501、140802,规格:56 ml/瓶;陕西康慧药业有限公司,批号:141213、150101,规格:56 ml/瓶);麝香酮对照品(批号:110719-200613,纯度:100%)、龙血竭对照药材(批号:1252-0301)、地黄对照药材(批号:1180-200001)均购自中国食品药品检定研究院;硅胶G薄层板(青岛海洋化工厂);无水乙醇、三氯甲烷、甲醇、石油醚(30~60℃)均为分析纯,水为双蒸水。

2 方法与结果

2.1 龙血竭和地黄的定性鉴别

取样品50 ml,蒸干,残渣加无水乙醇1 ml溶解,作为供试品溶液。另取龙血竭对照药材0.1 g,加无水乙醇5 ml溶解,制成龙血竭对照药材溶液;再取地黄对照药材0.5 g,加无水乙醇15 ml,超声(功率:250 W,频率:40 kHz)处理15 min,滤过,滤液浓缩至1 ml,制成地黄对照药材溶液;量取上述两种对照药材溶液(1:1, V/V)制成混合对照药材溶液。按麝香祛痛搽剂处方和制备工艺制备缺龙血竭、地黄的阴性样品,并按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按TLC法[2015年版《中国药典》(一部)]^[1]试验,吸取上述3种溶液各10 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-甲醇(10:1, V/V)为展开剂,置于氨蒸气饱和的展开缸内,展开,取出,晾干,日光下检视。结果显示,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰,详见图1。

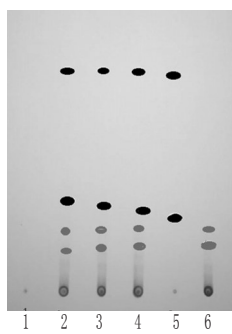


图1 薄层色谱图

2~4.供试品;1,5.阴性对照;6.对照药材

Fig 1 TLC chromatograms

2-4.test samples;1,5.negative control;6.control medicinal

2.2 总固体测定

精密量取样品25 ml,置于105℃已干燥至恒质量的蒸发皿中,蒸干,于105℃下干燥3 h,置于干燥器中冷却30 min,称定质量,计算总固体的质量分数,结果见表1。由表1可知,拟定样品的总固体应 $\geq 0.6\%$ 。

2.3 醚溶性提取物测定

精密量取样品25 ml,加石油醚(30~60℃)25 ml,振摇提取,分取石油醚层,置于105℃下干燥至恒质量的蒸发皿中,挥尽溶剂,置于硫酸干燥器中干燥6 h,称定质量,计算醚溶性提取物的质量分数,结果见表2。由表2可知,拟定样品的醚溶性提取物应 $\geq 3.0\%$ 。

2.4 麝香酮的含量测定

2.4.1 色谱条件 色谱柱:Thermo-TG-WAXMS毛细管柱(30

表1 总固体测定结果

Tab 1 Determination results total solids

| 样品批号 | 总固体, % |
|--------|--------|
| 140319 | 0.732 |
| 131203 | 0.745 |
| 140701 | 0.693 |
| 140101 | 0.712 |
| 140501 | 0.732 |
| 140802 | 0.716 |
| 141213 | 0.723 |
| 150101 | 0.718 |

表2 醚溶性提取物测定结果

Tab 2 Determination of ether soluble extrac

| 样品批号 | 醚溶性提取物, % |
|--------|-----------|
| 140319 | 3.71 |
| 131203 | 3.72 |
| 140701 | 3.60 |
| 140101 | 3.60 |
| 140501 | 3.66 |
| 140802 | 3.65 |
| 141213 | 3.57 |
| 150101 | 3.50 |

m \times 0.32 mm, 0.25 μm);升温程序:初温100℃,保持3 min后,以每分钟2℃的速率升至130℃,保持5 min,再以每分钟0.8℃的速率升至180℃,保持2 min;检测器:氢火焰离子化检测器;检测器温度:250℃;进样口温度:200℃;流速:1.0 ml/min;分流比:5:1;载气:高纯氮气(99.999%);进样量:1 μl。在此色谱条件下,样品中麝香酮峰能与相邻峰达到基线分离,理论板数以麝香酮峰计应 $> 20\ 000$,阴性对照对测定无干扰,详见图2。

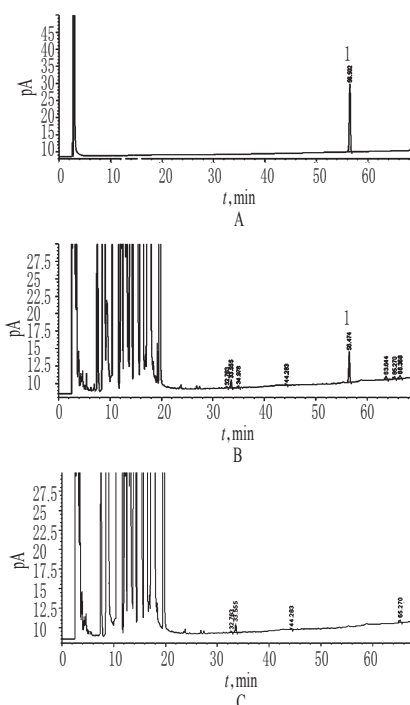


图2 气相色谱图

A.对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.麝香酮

Fig 2 GC chromatograms

A.reference substance;B.test sample;C.negative control;1.muscone

2.4.2 对照品溶液的制备 精密称取麝香酮对照品 15.21 mg, 置于 50 ml 量瓶中, 用无水乙醇溶解并定容, 摇匀, 即得。

2.4.3 供试品溶液的制备 精密吸取样品 25 ml, 置于分液漏斗中, 加水 100 ml, 摇匀, 用石油醚(30~60 ℃)提取 2 次, 每次 50 ml。合并石油醚, 自然挥干。残渣用无水乙醇转移至 2 ml 量瓶中, 加无水乙醇定容, 摇匀, 即得。

2.4.4 阴性对照溶液的制备 按麝香祛痛搽剂处方和制备工艺制备缺人工麝香的阴性样品, 并按“2.4.3”项下方法制成阴性对照溶液。

2.4.5 线性关系考察 分别精密量取“2.4.2”项下对照品溶液 0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0 ml, 各置于 10 ml 量瓶中, 加无水乙醇定容, 制成系列对照品溶液。精密量取上述系列对照品溶液各 1 μl, 按“2.4.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。以麝香酮质量浓度(x, μg/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归, 得回归方程为 $y=0.7067x+0.7715$ ($r=0.9998$)。结果表明, 麝香酮检测质量浓度线性范围为 15.21~243.36 μg/ml。

2.4.6 精密度试验 取“2.4.2”项下对照品溶液适量, 按“2.4.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次, 记录峰面积。结果, 麝香酮峰面积的 RSD=0.2% ($n=6$), 表明仪器精密度良好。

2.4.7 稳定性试验 取“2.4.3”项下供试品溶液(批号: 140319)适量, 分别于室温下放置 0、2、4、8、12 h 时进样测定, 记录峰面积。结果, 麝香酮峰面积的 RSD=1.5% ($n=5$), 表明供试品溶液在 12 h 内基本稳定。

2.4.8 重复性试验 精密量取同一批样品(批号: 140319)适量, 按“2.4.3”项下方法制备供试品溶液, 共 6 份, 再按“2.4.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果, 麝香酮峰面积的 RSD=0.8% ($n=6$), 表明本方法重复性良好。

2.4.9 加样回收率试验 取已知含量样品(批号: 140319)适量, 共 6 份, 分别加入一定质量的麝香酮对照品, 按“2.4.3”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.4.1”项下色谱条件进样测定并计算加样回收率, 结果见表 3。

表 3 加样回收率试验结果 ($n=6$)

Tab 3 Result of recovery test ($n=6$)

| 取样量, ml | 样品含量, μg | 加入量, μg | 测得量, μg | 加样回收率, % | 平均加样回收率, % | RSD, % |
|---------|----------|---------|---------|----------|------------|--------|
| 46 | 147.66 | 152.1 | 298.45 | 99.14 | | |
| 48 | 154.08 | 152.1 | 305.32 | 99.43 | | |
| 50 | 160.50 | 152.1 | 309.72 | 98.11 | | |
| 52 | 166.92 | 152.1 | 315.52 | 97.70 | 99.14 | 0.78 |
| 54 | 173.34 | 152.1 | 324.87 | 99.63 | | |
| 56 | 179.76 | 152.1 | 330.58 | 99.16 | | |

2.4.10 样品含量测定 取各批样品适量, 分别按“2.4.3”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.4.1”项下色谱条件进样测定并计算含量, 结果见表 4。由表 4 可知, 拟定样品每 1 ml 中含麝香酮 ≥ 2.6 μg。

3 讨论

表 4 样品含量测定结果 ($n=3$)

Tab 4 Results of content determination of sample ($n=3$)

| 样品批号 | 取样量, ml | 含量, μg/ml | 平均值, μg/ml |
|--------|---------|-----------|------------|
| 140319 | 25 | 3.21 | |
| 131203 | 25 | 3.35 | |
| 140701 | 25 | 3.04 | |
| 140101 | 25 | 3.07 | |
| 140501 | 25 | 3.62 | 3.23 |
| 140802 | 25 | 3.58 | |
| 141213 | 25 | 3.01 | |
| 150101 | 25 | 2.98 | |

麝香祛痛搽剂方中地黄量较大, 且具有较强的药理作用^[2]; 而龙血竭也属于贵重药材, 疗效显著^[3]。因此, 对这两种药材进行定性鉴别可更好地控制制剂质量。结果表明, 本试验中建立的 TLC 法能很好地对这两种药材进行鉴别。

麝香祛痛搽剂作为一种 50% 乙醇浸提的液体制剂, 药材组分较多且成分复杂, 其中冰片、樟脑、薄荷脑、独活、红花等药材均具挥发性成分^[4], 采用高效液相色谱法无法全面准确反映制剂中有效成分的含量, 因此本试验采用了样品中总固体和醚溶性提取物两个指标进行控制, 并初步拟定了相应标准, 以期能更有效地控制该制剂中有效成分含量。

处方中人工麝香属于名贵药材, 麝香酮是麝香中不可替代的最具生理活性的组分^[5-6]。现行标准只对麝香酮进行了定性鉴别, 无法对其含量进行有效控制。人工麝香在处方中投料量较小, 考虑到人工麝香中麝香酮的脂溶性特点, 对麝香酮进行了石油醚萃取富集处理。因萃取后的样品中挥发性成分较多, 笔者在参考文献的基础上^[7], 采用气相色谱法并通过大量试验建立了升温程序, 能够很好地将样品中各组分分离, 保证了检测结果的准确、可靠。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2015 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 142.
- [2] 李慧芬. 地黄药理作用和临床应用概况[J]. 药学研究, 2014, 33(6): 345.
- [3] 刘芳, 戴荣继, 邓玉林, 等. 龙血竭化学成分研究进展[J]. 中国药房, 2010, 21(15): 1437.
- [4] 苏小琴, 李曼曼, 顾宇凡, 等. 龙血竭酚类成分研究[J]. 中草药, 2014, 45(11): 1511.
- [5] 郭经. 人工麝香研究进展[J]. 中国医学科学院学报, 2014, 36(6): 577.
- [6] 张芳, 张霞, 刘春美, 等. 手性 GC 法测定麝香中麝香酮的含量[J]. 中国药房, 2011, 22(43): 4089.
- [7] 马丽锋, 郝六平, 李丽娟, 等. 麝香酮的药理与合成研究进展[J]. 河北化工, 2010(2): 11.

(收稿日期: 2015-05-25 修回日期: 2015-10-16)

(编辑: 张 静)