

正骨丸制备工艺及其质量标准建立

张文明, 冯子芳, 顾丽红, 秦苹, 卞振华*, 胡敏敏, 陈晓伟
(南京中医药大学附属无锡医院, 江苏 无锡 214071)

摘要: **目的** 建立正骨丸制备工艺及其质量标准。**方法** 以煎煮时间、煎煮次数、加水量为影响因素, 浸膏得率及表儿茶素、柚皮苷转移率的综合评分为评价指标, 正交试验优化煎煮工艺。以清膏相对密度、药粉细度、清膏与玉米淀粉比例、干燥温度、干燥时间为影响因素, 软材性状、丸剂成型性、水分、溶散时限为评价指标, 单因素试验优化成型工艺。TLC法定性鉴别续断、盐补骨脂、熟大黄、三七, HPLC法测定芍药苷、柚皮苷含量。**结果** 最佳煎煮工艺为煎煮时间0.5 h, 煎煮次数2次, 加水量10倍, 综合评分为0.93。最佳成型工艺为清膏相对密度1.21~1.22, 药粉细度80目, 清膏与玉米淀粉比例1:0.17~1:0.18, 干燥温度70℃, 干燥时间24 h, 软材性状、丸剂成型性良好, 水分、溶散时限符合2020年版《中国药典》要求。TLC斑点清晰, 阴性无干扰。2种成分分别在61.30~490.41 μg/mL ($r=0.9998$)、3.27~26.18 μg/mL ($r=0.9998$) 范围内线性关系良好, 平均加样回收率分别为100.15%、98.15%, RSD分别为0.55%、2.30%。**结论** 该方法稳定可靠, 专属性强, 可用于正骨丸生产及其质量评价。

关键词: 正骨丸; 制备工艺; 质量标准; 正交试验; 单因素试验; TLC; HPLC

中图分类号: R944

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2025)09-2863-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.09.006

Establishment of preparation process and quality standard for Zhenggu Pills

ZHANG Wen-ming, FENG Zi-fang, GU Li-hong, QIN Ping, BIAN Zhen-hua*, HU Min-min, CHEN Xiao-wei

(Wuxi Hospital Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Wuxi 214071, China)

ABSTRACT: AIM To establish the preparation process and quality standard for Zhenggu Pills. **METHODS** With decoction time, decoction frequency and water addition as influencing factors, comprehensive score for extract yield and transfer rates of epicatechin and naringin as an evaluation index, the decoction process was optimized by orthogonal test. With sugarless paste relative density, medicinal powder fineness, sugarless paste-corn starch ratio, drying temperature and drying time as influencing factors, soft material traits, pill formability, moisture and disintegration time limit as evaluation indices, the formability process was optimized by single factor test. TLC was adopted in the qualitative identification of *Dipsaci Radix*, salt-processed *Psoraleae Fructus*, cooked *Rhei Radix et Rhizoma* and *Notoginseng Radix et Rhizoma*. HPLC was used for the content determination of paeoniflorin and naringin. **RESULTS** The optimal decoction process was determined to be 0.5 h for decoction time, two times for decoction frequency, and 10 times for water addition, the comprehensive score was 0.93. The optimal formability process was determined to be 1.21–1.22 for sugarless paste relative density, 80 mesh for medicinal powder fineness, 1:0.17–1:0.18 for sugarless paste-corn starch ratio, 70℃ for drying temperature, and 24 h for drying time, good soft material traits and pill formability were observable, and moisture and disintegration time limit accored with 2020 edition of Chinese Pharmacopoeia requirements. The TLC spots were clear without negative interference. Two constituents showed good linear relationships within 61.30–490.41 μg/mL

收稿日期: 2025-01-17

基金项目: 江苏省研究生科研创新计划项目 (KYCX20_1513); 无锡市卫生健康委科研项目 (Q202369); 无锡市科学技术协会项目 (KX-24-C162); 无锡市中医药管理局科技项目 (ZYYB12)

作者简介: 张文明 (1996—), 女, 硕士, 从事中药质量评价及其药效物质基础研究。E-mail: zhangwm0610@163.com

* 通信作者: 卞振华 (1987—), 男, 博士, 硕士生导师, 副主任中药师, 从事中药质量评价及其药效物质基础研究。E-mail: 20193096@njucm.edu.cn

($r=0.9998$) and $3.27\text{--}26.18\ \mu\text{g/mL}$ ($r=0.9998$), whose average recoveries were 100.15% and 98.15% with the RSDs of 0.55% and 2.30%, respectively. **CONCLUSION** This stable, reliable and specific method can be used for the production and quality evaluation of Zhenggu Pills.

KEY WORDS: Zhenggu Pills; preparation process; quality standard; orthogonal test; single factor test; TLC; HPLC

正骨丸由江苏省非物质文化遗产“刘氏骨伤疗法”第四代传承人王建伟教授在刘秉夫先生的基础上优化而成^[1], 历经十余年临床应用, 已广泛用于治疗骨折愈合及外伤导致的骨折、脱位、筋伤等病症^[2]。该制剂含续断、盐补骨脂、烫骨碎补等 10 味君药, 强化肝肾、筋骨, 促进骨折愈合; 臣以儿茶、熟大黄、三七等 8 味中药, 活血化瘀, 促进新血生成; 佐以炒白芍、当归、熟地黄等 9 味中药, 益气养血、调经止痛; 甘草为使药, 调和诸药, 方中骨碎补所含关键活性成分柚皮苷能促进成骨细胞的增殖与分化, 同时抑制破骨细胞增殖及其活性, 有助于形成新的骨组织, 减少骨吸收^[3-4]; 白芍所含芍药苷具有调控 NF- κ B 信号通路的功能, 能抑制破骨细胞生成过程, 促进成骨细胞的分化与增殖, 加速骨折愈合进程^[5-6]。

本实验采用正交试验对正骨丸煎煮工艺进行优化, 以确定其最佳参数, 单因素试验优化该制剂制备工艺, 再综合应用定性定量分析建立其质量标准, 以期为后续相关开发与新药研制提供理论基础, 从而更有效地满足临床需求。

1 材料

1.1 仪器 Agilent 1200 型高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); BSA224S-CW 型电子天平 (德国 Sartorius 公司); KQ-300E 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); Good Look-1000 型薄层色谱成像系统 (上海科哲有限公司); AW-90 型全自动制丸机 (温岭市奥力中药机械有限公司)。

1.2 试剂、药材与药物 五加皮 (批号 221010)、烫狗脊 (批号 221101)、煅自然铜 (批号 220407)、烫骨碎补 (批号 221004)、牛膝 (批号 221203)、盐杜仲 (批号 221127)、桑寄生 (批号 221112)、海马 (批号 221105)、盐补骨脂 (批号 221201)、苏木 (批号 230105)、儿茶 (批号 220611)、血竭 (批号 221025)、熟大黄 (批号 221108)、牡丹皮 (批号 221020)、红花 (批号 230208)、川芎 (批号 221019)、炒白芍 (批号 221117)、当归 (批号 221119)、熟地黄 (批号 221202)、黄芪 (批号 221210)、麸炒白术 (批号

221213)、茯苓 (批号 230103)、丁香 (批号 220519)、木香 (批号 220811)、党参 (批号 221024)、甘草 (批号 221103) 均购于苏州市天灵中药饮片有限公司; 续断 (批号 22123002) 购于江苏亚邦中药饮片有限公司; 三七 (批号 2022074801) 购于江苏红豆杉中药饮片有限公司, 以上饮片均经南京中医药大学附属无锡医院副主任中药师卞振华鉴定为正品。表儿茶素 (批号 110878-201703, 纯度 99.7%)、芍药苷 (批号 110736-202145, 纯度 94.6%)、柚皮苷 (批号 110722-202116, 纯度 93.5%) 对照品及续断 (批号 121033-202113)、补骨脂 (批号 121056-202106)、大黄 (批号 121249-202105)、三七 (批号 120941-201810) 对照药材均购于中国食品药品检定研究院; 玉米淀粉 (批号 230301) 购于陕西奥克药用辅料有限公司。正骨丸共 3 批 (批号 20230418、20230419、20230420), 由南京中医药大学附属无锡医院制剂室自制。乙腈为色谱纯; 其余试剂均为分析纯; 水为纯净水 (杭州娃哈哈集团有限公司)。

2 制备工艺建立

2.1 提取工艺优化 基于前期预实验结果结合实际生产经验, 选择煎煮时间 (A)、煎煮次数 (B)、加水量 (C) 作为影响因素, 浸膏得率及表儿茶素、柚皮苷转移率的综合评分^[7]为评价指标, 采用 $L_9(3^4)$ 表进行考察, 因素水平见表 1, 结果见表 2。其中, 表儿茶素转移率 = (煎液中表儿茶素含量/儿茶中表儿茶素含量) $\times 100\%$, 柚皮苷转移率 = (煎液中柚皮苷含量/骨碎补中柚皮苷含量) $\times 100\%$, 综合评分 = (浸膏得率/最大浸膏得率) $\times 0.2 +$ (表儿茶素转移率/最大表儿茶素转移率) $\times 0.4 +$ (柚皮苷转移率/最大柚皮苷转移率) $\times 0.4$ 。

表 1 正交试验因素水平

Tab. 1 Factors and levels for orthogonal test

水平	因素		
	A 煎煮时间/h	B 煎煮次数/次	C 加水量/倍
1	0.5	1	8
2	1	2	10
3	1.5	3	12

表2 正交试验设计与结果
Tab. 2 Design and results for orthogonal test

试验号	因素				浸膏得率/%	表儿茶素转移率/%	柚皮苷转移率/%	Y 综合评分
	A	B	C	D(空白)				
1	1	1	1	1	18.45	73.30	48.09	0.63
2	1	2	2	2	24.77	70.12	157.38	0.93
3	1	3	3	3	27.79	75.22	62.42	0.73
4	2	1	2	3	21.10	73.97	45.59	0.64
5	2	2	3	1	26.00	75.42	31.40	0.64
6	2	3	1	2	26.47	55.99	114.55	0.75
7	3	1	3	2	23.00	55.70	46.99	0.56
8	3	2	1	3	26.16	59.78	34.60	0.57
9	3	3	2	1	32.21	65.01	148.38	0.92
K ₁	0.76	0.61	0.65	0.73	—	—	—	—
K ₂	0.68	0.71	0.83	0.75	—	—	—	—
K ₃	0.68	0.80	0.64	0.65	—	—	—	—
R	0.08	0.19	0.19	0.10	—	—	—	—

方差分析见表3。由此可知,各因素均无显著影响 ($P < 0.05$); 最优工艺为 $A_1B_3C_2$, 即煎煮时间 0.5 h, 煎煮次数 3 次, 加水量 10 倍。综合考虑, 将煎煮次数调整为 2 次以优化经济效益和实际生产条件。

表3 方差分析结果

Tab. 3 Results for analysis of variance

来源	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	P 值
A	0.01	2	0.77	19.00	>0.05
B	0.06	2	3.35	19.00	>0.05
C	0.07	2	3.94	19.00	>0.05
D(空白)	0.02	2	—	—	—

注: $F_{0.05}(2,2) = 19, F_{0.01}(2,2) = 99$ 。

称取组方药材适量, 按优化工艺平行制备 3 批样品, 进行验证试验, 结果见表4。由此可知, 浸膏得率接近正交试验最大值, 而表儿茶素、柚皮苷转移率均超过后者, 表明该工艺稳定可行。

表4 验证试验结果 ($n=3$)

Tab. 4 Results for verification tests ($n=3$)

试验号	表儿茶素转移率/%	柚皮苷转移率/%	浸膏得率/%
1	88.25	185.14	26.02
2	92.63	182.21	26.15
3	93.09	182.61	26.17
平均值	91.32	183.32	26.11
RSD/%	2.92	0.87	0.30

2.2 成型工艺优化

2.2.1 清膏相对密度 依据处方对各药材进行水煎提取, 浓缩至相对密度 1.19~1.24, 与剩余 15 味药材细粉 (80 目) 及玉米淀粉混合制丸, 选择软材性状、丸剂成型性作为评价指标, 最终确定为 1.21~1.22, 见表5。

表5 清膏相对密度筛选结果

Tab. 5 Results for sugarless paste relative density screening

相对密度	软材性状	丸剂成型性
1.19	干硬	无法制丸
1.20	硬, 丸粒不圆整且有裂痕	可制丸, 丸粒有裂痕
1.21	不粘手, 略硬	易制丸, 丸粒光滑圆整无裂痕
1.22	软硬适中	易制丸, 丸粒光滑圆整无裂痕
1.23	粘手	无法制丸
1.24	粘手	无法制丸

2.2.2 药粉细度 将 15 味药材粉碎后过 65~120 目筛, 固定清膏相对密度 1.21, 与玉米淀粉混合制丸, 在 70 °C 下干燥 24 h, 依据成型情况、水分、溶散时限, 最终确定为 80 目, 见表6。

表6 药粉细度筛选结果

Tab. 6 Results for medicinal powder fineness screening

药粉细度/目	成型情况	水分/%	溶散时限/min
65	药粉粗, 纤维状物多, 不易成型, 丸粒有裂痕	1.57	17.50
80	药粉细腻, 成型良好, 丸粒圆整无裂痕	2.80	21.50
100	药粉细腻, 丸粒不圆整, 有裂痕	2.20	25.50
120	软材偏软, 丸粒不圆整或难成型	1.59	29.50

2.2.3 清膏与玉米淀粉比例 固定药粉细度 80 目, 清膏相对密度 1.21, 发现清膏与玉米淀粉比例为 1:0.17~1:0.18 时, 丸块性状优良, 成型容易, 见表7。

表7 清膏与玉米淀粉比例筛选结果

Tab. 7 Results for sugarless paste-corn starch ratio screening

清膏与玉米淀粉比例	软材性状	成丸情况
1:0.16	过软, 粘壁	无法成丸
1:0.17	稍粘壁	能成丸, 表面光滑且没有裂痕
1:0.18	不粘壁	能成丸, 表面光滑且没有裂痕
1:0.19	过干且松散	无法成丸

2.2.4 干燥温度 固定药粉细度 80 目，清膏相对密度 1.21，与玉米淀粉混合制丸，分别在 50、60、70、80 °C 下干燥 24 h，选择水分、溶散时限作为评价指标，发现在 60、70、80 °C 下两者均符合 2020 年版《中国药典》要求，考虑检测效率与实际生产需求，最终确定为 70 °C，见表 8。

表 8 干燥温度筛选结果

Tab. 8 Results for drying temperature screening

干燥温度/°C	水分/%	溶散时限/min
50	9.46	12.50
60	4.51	15.50
70	2.12	15.50
80	2.04	25.50

2.2.5 干燥时间 固定药粉细度 80 目，清膏相对密度 1.21，与玉米淀粉混匀制丸，在 70 °C 下分别干燥 12、18、24、30 h，选择水分、溶散时限作为评价指标，发现干燥 18、24、30 h 后，两者均符合 2020 年版《中国药典》要求，考虑检测效率与实际生产规模，最终确定为 24 h，见表 9。

表 9 干燥时间筛选结果

Tab. 9 Results for drying time screening

干燥时间/h	水分/%	溶散时限/min
12	10.57	14.50
18	3.09	16.50
24	1.81	16.50
30	1.81	21.50

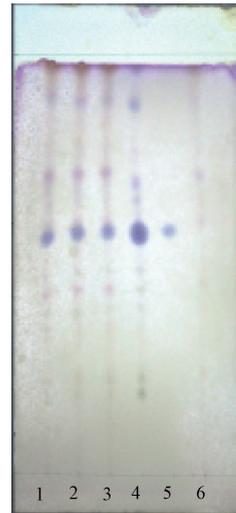
2.2.6 验证试验 以 10 倍量水浸泡提取组 13 味药材（总重 5.22 kg）30 min，煮沸并保持 0.5 h，过滤，重复上述操作 1 次，合并滤液，浓缩至相对密度 1.21；另将粉碎组 15 味药材（总重 4.68 kg）粉碎成细粉，与清膏及玉米淀粉混匀，制成丸剂，干燥，包装，发现制剂外观性状、水分、溶散时限、装量差异均符合 2020 年版《中国药典》要求。

3 质量标准建立

3.1 TLC 定性鉴别

3.1.1 续断 取本品 2 g，粉碎后加 30 mL 甲醇，超声处理 30 min，过滤，蒸干滤液，向残渣中加入 10 mL 水，20 mL 水饱和正丁醇萃取 2 次，合并萃取液，依次用 20 mL 氨试液、20 mL 正丁醇饱和水洗 2 次，蒸干上层萃取液，加入 1 mL 甲醇搅拌溶解，制成供试品溶液；制备不含续断的阴性样品，同法制成阴性样品溶液；取续断对照药材 1 g，加 30 mL 甲醇，同法制成对照药材溶液；取川续断皂苷 VI 对照品适量，甲醇制成 2 mg/mL 对照品溶液。

吸取供试品、阴性样品、对照药材溶液各 1 μL 及对照品溶液 3 μL，点于硅胶 G 薄层板上，展开于三氯甲烷-甲醇-水（10 : 7 : 2）下层溶液（4 °C 冷藏）中，展开距前沿约 2 cm 时取出，晾干，喷 10% 硫酸乙醇溶液，在 105 °C 下加热至斑点清晰，于日光下检视^[8-9]。结果，供试品溶液在对照药材、对照品溶液相应位置处显示相同颜色的斑点，阴性无干扰，见图 1。



注：1~3 为供试品（批号 20230418、20230419、20230420），4 为续断对照药材，5 为川续断皂苷 VI 对照品，6 为缺续断阴性样品。

图 1 续断 TLC 色谱图

Fig. 1 TLC chromatogram of *Dipsaci Radix*

3.1.2 盐补骨脂 取本品 2 g，粉碎后加入 30 mL 甲醇，超声处理 30 min，过滤，蒸干滤液，向残渣中加入 10 mL 水，20 mL 乙酸乙酯萃取 2 次，合并萃取液，蒸干，残渣加入 1 mL 甲醇溶解，制成供试品溶液；制备不含盐补骨脂的阴性样品，同法制成阴性样品溶液；取补骨脂对照药材 2 g，加 30 mL 甲醇，同法制成对照药材溶液；取补骨脂素对照品适量，甲醇制成 1 mg/mL 对照品溶液。吸取供试品、阴性样品溶液各 5 μL 及对照药材、对照品溶液各 1 μL，点于硅胶 G 薄层板上，展开于正己烷-乙酸乙酯（2 : 1）溶液中，展开距前沿约 2 cm 时取出，晾干，喷 10% 氢氧化钾甲醇溶液，于 365 nm 紫外光下观察^[10-11]。结果，供试品溶液在对照药材、对照品溶液相应位置处显示相同颜色的斑点，阴性无干扰，见图 2。

3.1.3 熟大黄 取本品 2 g，粉碎后加入 30 mL 甲醇，超声处理 30 min，过滤，蒸干滤液，向残渣中加入 10 mL 水，再加入 1 mL 盐酸，水浴加热 30 min，冷却，20 mL 乙醚萃取 2 次，合并萃取液，



注：1~3为供试品（批号 20230418、20230419、20230420），4为补骨脂对照药材，5为补骨脂素对照品，6为缺盐补骨脂阴性样品。

图2 盐补骨脂 TLC 色谱图

Fig. 2 TLC chromatogram of salt-processed *Psoraleae Fructus*

蒸干，残渣加入 1 mL 三氯甲烷搅拌溶解，制成供试品溶液；制备不含熟大黄的阴性样品，同法制成阴性样品溶液；取大黄对照药材 0.2 g，加入 30 mL 甲醇，同法制成对照药材溶液。吸取供试品、阴性样品溶液各 5 μ L 及对照药材溶液 3 μ L，点于硅胶 G 薄层板，展开于正己烷-乙酸乙酯-冰醋酸（15 : 5 : 0.3）溶液中，展开距前沿约 2 cm 时取出，晾干，于 365 nm 紫外光下观察^[12-13]。结果，供试品溶液中在对照药材溶液相应位置处显示相同颜色的斑点，阴性无干扰，见图 3。

3.1.4 三七 取本品 2 g，粉碎后加入 30 mL 甲醇，超声处理 30 min，按“3.1.1”项下方法制成供试品溶液；制备不含三七的阴性样品，同法制成阴性样品溶液；取三七对照药材 2 g，加 30 mL 甲醇，同法制成对照药材溶液；取人参皂苷 Rb1 对照品适量，甲醇制成 1 mg/mL 对照品溶液。吸取供试品、阴性样品溶液各 3 μ L 及对照药材、对照品溶液各 1 μ L，点于硅胶 G 薄层板，展开于 4 $^{\circ}$ C 冷藏的三氯甲烷-甲醇-水（10 : 7 : 2）的下层溶液中，展开距前沿约 2 cm 时取出，晾干，喷 10% 硫酸乙醇溶液，在 105 $^{\circ}$ C 下加热，于 365 nm 紫外光下观察^[14-15]。结果，供试品溶液在对照药材、对照品溶液相应位置处显示相同颜色的斑点，阴性无干扰，见图 4。

3.2 HPLC 含量测定

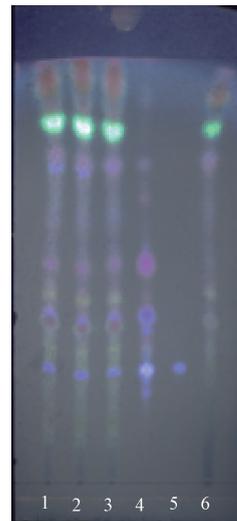
3.2.1 色谱条件 XBridge C₁₈ 色谱柱（4.6 mm \times



注：1~3为供试品（批号 20230418、20230419、20230420），4为大黄对照药材，5为缺熟大黄阴性样品。

图3 熟大黄 TLC 色谱图

Fig. 3 TLC chromatogram of cooked *Rhei Radix et Rhizoma*



注：1~3为供试品（批号 20230418、20230419、20230420），4为三七对照药材，5为人参皂苷 Rb1 对照品，6为缺三七阴性样品。

图4 三七 TLC 色谱图

Fig. 4 TLC chromatogram of *Notoginseng Radix et Rhizoma*

150 mm, 5 μ m)；流动相乙腈（A）-0.1% 磷酸（B），梯度洗脱（0~10 min, 12% A；10~20 min, 12%~15% A；20~35 min, 15%~25% A；35~40 min, 25%~12% A）；体积流量 1 mL/min；柱温 35 $^{\circ}$ C；检测波长 230 nm；进样量 10 μ L。

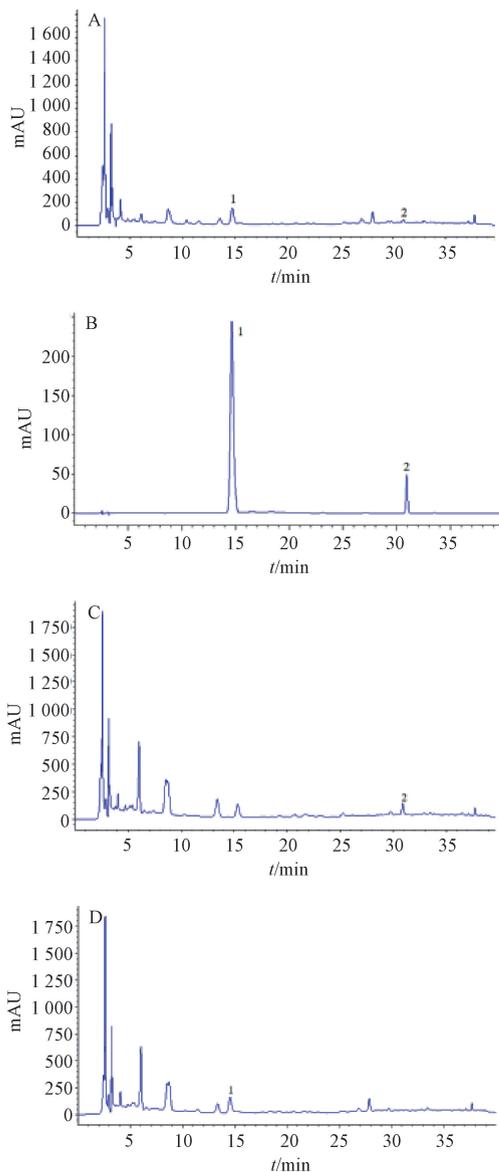
3.2.2 供试品溶液制备 取本品 1 g，粉碎，置于 10 mL 量瓶中，80% 甲醇定容至刻度，超声（300 W、40 kHz）处理 20 min，0.22 μ m 微孔滤膜过滤，即得。

3.2.3 对照品溶液制备 精密称取芍药苷、柚皮

苷对照品适量，80% 甲醇制成每 1 mL 分别含两者 1 226.02、65.45 μg 的溶液，即得。

3.2.4 阴性样品溶液制备 按照处方比例及制备工艺，分别制成缺炒白芍和牡丹皮、缺烫骨碎补的阴性样品，按“3.2.2”项下方法制备，即得。

3.2.5 专属性试验 取对照品、供试品、阴性样品溶液各 10 μL ，在“3.2.1”项色谱条件下进样测定，结果见图 5。由此可知，各成分分离度理想，阴性无干扰，表明该方法专属性良好。



注：A~D 分别为供试品、对照品、缺炒白芍和牡丹皮阴性样品、缺烫骨碎补阴性样品。

1. 芍药苷 2. 柚皮苷
1. paeoniflorin 2. naringin

图 5 各成分 HPLC 色谱图

Fig. 5 HPLC chromatograms of various constituents

3.2.6 线性关系考察 分别取“3.2.3”项下对

照品溶液 0.25、0.5、0.75、1.0、1.25、1.5、1.75、2.0 mL，置于 5 mL 量瓶中，80% 甲醇定容稀释，制成不同质量浓度的溶液，在“3.2.1”项色谱条件下进样测定。以对照品质量浓度为横坐标 (X)，峰面积为纵坐标 (Y) 进行回归，结果见表 10，可知各成分在各自范围内线性关系良好。

表 10 各成分线性关系

Tab. 10 Linear relationships of various constituents

成分	回归方程	r	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
芍药苷	$Y=10.13X-74.68$	0.999 8	61.30~490.41
柚皮苷	$Y=21.85X-9.76$	0.999 8	3.27~26.18

3.2.7 精密度试验 取同一份对照品溶液，在“3.2.1”项色谱条件下进样测定 6 次，测得芍药苷、柚皮苷峰面积 RSD 分别为 0.35%、0.52%，表明仪器精密度良好。

3.2.8 稳定性试验 取同一批本品，按“3.2.2”项下方法制备供试品溶液，于 0~24 h (每隔 4 h) 在“3.2.1”项色谱条件下进样测定，测得芍药苷、柚皮苷峰面积 RSD 分别为 0.57%、1.41%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

3.2.9 重复性试验 取同一批本品，按“3.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，在“3.2.1”项色谱条件下进样测定，测得芍药苷、柚皮苷含量 RSD 分别为 0.87%、1.86%，表明该方法重复性良好。

3.2.10 加样回收率试验 取各成分含量已知的本品 (批号 20230420) 0.5 g，共 6 批，置于 10 mL 量瓶中，加入 2 mL 对照品溶液 (芍药苷 0.70 mg/mL，柚皮苷 0.03 mg/mL)，80% 甲醇定容，超声处理 20 min，过滤，在“3.2.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率。结果，芍药苷、柚皮苷平均加样回收率分别为 100.15%、98.15%，RSD 分别为 0.55%、2.30%。

3.2.11 样品含量测定 取 3 批样品 (批号 20230418、20230419、20230420)，按“3.2.2”项下方法制备供试品溶液，在“3.2.1”项色谱条件下进样测定，计算含量。结果，芍药苷含量分别为 2.76、2.83、2.80 mg/g，柚皮苷含量分别为 0.15、0.14、0.15 mg/g。

4 讨论

4.1 制备工艺优化 本实验基于含量测定指标优选原则及君臣药可测性，以烫骨碎补中柚皮苷、儿茶中表儿茶素、浸膏含量为评价指标，对清膏相对密度、药粉细度、清膏与玉米淀粉比例进行考察，

以期确定正骨丸最佳制备工艺。其中,清膏相对密度对成型至关重要^[16-17],其过低则无法成型,过高则软材粘连,混匀困难,本实验经多次优化,最终确定为1.21~1.22,此时膏体流动性适宜,测定结果稳定准确。

4.2 TLC 定性鉴别 本实验分别对展开剂、点样量、专属性等参数进行方法学考察,发现不同温度、相对湿度及不同厂家、批号薄层板对结果均无显著影响。考察续断时,调整展开剂比例为三氯甲烷-甲醇-水10:7:2,可获得更适宜的 R_f 值。另外,补骨脂素与异补骨脂素作为补骨脂关键活性成分,对骨折愈合具有重要作用^[18-20],但后者有阴性干扰,故未将其纳入鉴别项。

4.3 HPLC 含量测定 本实验选择药理作用显著、性质稳定^[21]的芍药苷和柚皮苷作为指标成分,分别对流动相、柱温、样品预处理方式等参数进行考察,最终实现2种成分与邻近峰的有效分离,并且峰形良好,满足检测标准。另外,本实验曾对其他药材所含成分进行含量测定,包括川续断皂苷VI、补骨脂素、异补骨脂素、 β -蜕皮激素、松脂醇二葡萄糖苷等,但其分离效果不佳,专属性不足,分析条件有待进一步优化。

参考文献:

[1] 殷杰. 刘氏正骨I号方对全髋关节置换术后血栓前状态的影响[D]. 南京: 南京中医药大学, 2021.

[2] 陈思, 邵阳, 梁杰. 刘氏正骨丹联合椎体成形术治疗胸腰椎压缩性骨折的临床效果[J]. 中国当代医药, 2018, 25(34): 118-120.

[3] 刘博, 丁龙龙, 陈志健, 等. 骨碎补及其活性成分防治骨质疏松症的作用机制[J]. 中国骨质疏松杂志, 2024, 30(10): 1540-1547.

[4] 王文驰, 武瑞骥, 黄杰荣, 等. 柚皮苷防治骨质疏松症的分子机制[J]. 中国组织工程研究, 2024, 28(34): 5528-5535.

[5] Sun X H, Zhu K D, Feng C C, et al. Paeoniflorin ameliorates

hyperprolactinemia-induced inhibition of osteoblastogenesis by suppressing the NF- κ B signaling pathway[J]. *Int J Endocrinol*, 2022, 2022: 4572033.

[6] 赵金龙, 曾令烽, 梁桂洪, 等. 基于信号通路的中药有效成分治疗骨质疏松机制研究进展[J]. 中草药, 2020, 51(23): 6084-6094.

[7] 张文明, 唐静月, 卞振华, 等. 多指标正交试验法优选连豆清脉合剂提取工艺[J]. 新中医, 2023, 55(17): 7-12.

[8] 刘金花, 傅静, 李晓霞, 等. 参杞强精颗粒质量标准提升研究[J]. 亚太传统医药, 2024, 20(9): 38-41.

[9] 唐哲, 戴胜云, 王蔚, 等. 固相萃取结合薄层色谱法鉴别滋肾育胎丸中的何首乌、续断、巴戟天和白术[J]. 药物分析杂志, 2022, 42(8): 1306-1311.

[10] 李喜香, 刘效栓, 毕映燕, 等. 补脑软胶囊质量标准的研究[J]. 中成药, 2016, 38(2): 321-325.

[11] 王丹妮, 郭佳铭, 柴欣, 等. 基于一测多评法和薄层鉴别的补骨脂质量评价方法研究[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(15): 4089-4097.

[12] 马静, 楚亮, 宋毅, 等. 六味能消丸TLC鉴别及3种蒽醌类成分的含量测定[J]. 中成药, 2024, 46(9): 3063-3068.

[13] 张纯, 陈叶青, 金佩芬, 等. 清肺抑火片质量评价[J]. 中成药, 2023, 45(11): 3540-3547.

[14] 刘静玉, 金武燮, 谷丽华, 等. 冠心生脉丸质量标准提升[J]. 中成药, 2024, 46(3): 724-729.

[15] 黄蕾, 刘新国, 程璐, 等. 黄连降脂剂的质量标准研究[J]. 医药导报, 2020, 39(10): 1390-1393.

[16] 周晓兰, 邹福贤, 杨真真, 等. 芍药浓缩丸制备工艺研究[J]. 福建中医药, 2022, 53(6): 27-30.

[17] 欧阳若水. 加味五子衍宗浓缩丸的制备工艺及质量标准研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2022.

[18] 吴西, 王中琪, 高玉海, 等. 异补骨脂素通过促进骨形成加快骨折愈合[J]. 陆军军医大学学报, 2024, 46(3): 240-248.

[19] 吴西, 王中琪, 魏娟娟, 等. 异补骨脂素促进小鼠胫骨骨折愈合的研究[J]. 中国骨伤, 2023, 36(12): 1169-1176.

[20] 邱丽玲, 金镇雄, 赵永见, 等. 补骨脂素通过刺激成肌分化促进骨质疏松性骨折愈合的疗效观察[J]. 老年医学与保健, 2020, 26(5): 746-749.

[21] 徐倩, 杨满琴, 鲍学梅, 等. HPLC法同时测定十三味和中丸中9种成分[J]. 中成药, 2020, 42(2): 297-300.