

脑脉II 号胶囊鉴别和含量测定方法的研究

赵瑞芝 丘小惠 刘茂才(广州 510120 广东省中医院中心实验室)

摘要 目的: 建立脑脉II 号胶囊的质量控制方法。方法: 用薄层色谱法对其中人工牛黄, 虎杖, 龙胆草, 益母草进行了定性鉴别, 用薄层扫描法对人工牛黄中胆酸进行了含量测定。结果: 线性范围为 2.65~15.9mg/m 平均回收率为 100.5, RSD 为 2.4%。结论: 该方法简便、准确, 可作为该制剂的质量控制方法。

关键词 薄层层析; 胆酸; 薄层扫描法

Study on methods of identification and content determination of Naomai II Hao capsules

Zhao Ruizhi (Zhao R), Qiu Xiaohui (Qiu X), Liu Maocai (Liu M) (The center Laboratory, Traditional Chinese Medicine Hospital of Guangdong Province)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** A quality control method was established. **METHOD:** Its ingredients, *Calculus bovis factitious*, *Rhizoma polygoni cuspidati*, *Leonurus heterophyllus* Sweet, *Gentiana scabra* were identified by TLC. The Cholic acid content was determined by TLCS method. **RESULTS:** The linear range was 4.91~19.46mg/ml, The recovery was 100.7% (RSD was 1.66%). **CONCLUSION:** The method is simple and accurate, and may be used as the assay method for the capsules.

KEY WORDS Naomai II hao capsule, TLC, cholic acid, TLCS

脑脉II 号为我院医院制剂, 由人工牛黄, 虎杖, 益母草, 龙胆草, 水蛭, 水牛角等药组成, 具清肝熄风, 破瘀涤痰的功效, 临床用于治疗中风中脏腑阳闭症。为了控制产品质量, 保证药物疗效, 我们对其中人工牛黄, 虎杖, 龙胆草, 益母草进行了薄层鉴别, 利用薄层扫描法测定了其中胆酸的含量。

1 仪器与试剂

CS9301 型薄层扫描仪, (日本岛津公司), 胆酸标准品, 水苏碱标准品, 大黄素标准品(中国药品生物制品检定所), 人工牛黄: 武汉第二生物化学制药厂, 药材对照品, (广州市药材站)。其它试剂均为分析纯。

2 定性鉴别

2.1 胆酸的鉴别

2.1.1 供试品溶液的制备: 取本品 6 粒(约 3g) 倾出内容物于 100ml 锥形瓶中, 加氯仿-冰醋酸(20: 1) 溶液 20ml, 超声处理 30min, 过滤, 滤液浓缩至干, 加乙醇 2ml 溶解, 作为供试品溶液。

2.1.2 胆酸对照品溶液的配制: 称取胆酸对照品 5mg, 定容于 1ml 容量瓶中, 作为对照品溶液。

2.1.3 对照药材溶液的制备: 取人工牛黄粉约 0.2g, 同上法操作, 制备药材对照溶液。

2.1.4 阴性对照品溶液的制备: 取不含人工牛黄的阴性样品约 3g, 按供试品溶液的制备方法, 制成阴性对照品溶液。

2.1.5 薄层色谱鉴别: 取供试品液, 药材对照液及阴性对照品溶液各 4 μ l, 对照品溶液 2 μ l, 点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-乙醚-冰醋酸(2: 2: 1) 为展开剂展开, 取出, 晾干。以 10% 硫酸乙醇为显色剂显色, 置 100 $^{\circ}$ C 加热 7min。供试品在与对照品相同位置上, 显相同的紫色斑点, 结果见图 1。

2.2 虎杖的鉴别

2.2.1 供试品溶液的制备: 取样品 10 粒, 加乙醇 20ml, 放置过夜, 滤过, 滤液浓缩至干, 加乙醇 2ml 溶解, 作为供试品溶液。

2.2.2 对照品溶液的配制: 称取大黄素对照品 2mg, 用乙醇定容于 25ml 容量瓶中, 作为阳性对照品溶液。

2.2.3 药材对照品溶液的制备: 称取虎杖药材 3g, 加乙醇 20ml, 放置过夜, 滤过, 浓缩, 加乙醇 2ml 溶解, 作为药材对照品溶液。

2.2.4 阴性对照品溶液的制备: 另取缺虎杖的阴性样品约 5g, 按供试品溶液的制备方法制成阴性对照品溶液。

2.2.5 薄层鉴别: 分别吸取供试液 2 μ l, 药材对照液, 对照品溶液及阴性对照品溶液 10 μ l, 点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚-乙酸乙酯-冰醋酸(87: 6.4: 3.6)为展开剂展开, 取出, 晾干, 在紫外光下观察, 在与对照品相同位置上显相同颜色的斑点, 见图 2。

2.3 益母草的鉴别

2.3.1 供试品溶液的制备: 取本品 10 粒(约 5g)倾出内容物, 于 100ml 锥形瓶中加入乙醇 20ml, 超声震荡 30min, 滤过, 滤液浓缩至干, 加乙醇 5ml 溶解, 作为供试品溶液。

2.3.2 对照品溶液的配制: 取水苏碱 2mg, 溶于 2ml 乙醇中, 作为阳性对照品溶液。

2.3.3 药材对照品溶液的制备: 取益母草药材 5g, 照样品提取方法提取, 提取液浓缩至干, 加乙醇 5ml 溶解, 作为药材对照溶液。

2.3.4 阴性对照品溶液的制备: 取缺益母草的阴性样品约

5g, 按供试品溶液的制备方法, 制成阴性对照品溶液。

2.3.5 薄层色谱鉴别: 分别吸取供试液, 药材对照液, 对照品溶液及阴性对照品溶液各 10 μ l, 点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正丁醇-硫酸-乙酸乙酯(8: 3: 1)为展开剂展开, 晾干, 喷以改良碘化铋钾溶液, 供试品与对照品相同位置上, 显相同的红色斑点, 见图 3。

2.4 龙胆的鉴别

2.4.1 供试品溶液的制备: 同 2.3.1。

2.4.2 药材对照品溶液的制备: 取龙胆药材 3g, 照样品制备方法提取, 按供试品制备方法制备。

2.4.3 阴性对照品溶液的制备: 取缺龙胆的阴性样品约 5 克, 按供试品溶液的制备方法制成阴性对照品溶液。

2.4.4 薄层色谱鉴别: 分别吸取供试液 2 μ l, 药材对照液及阴性对照品溶液各 10 μ l, 点于同一硅胶 G 薄层板上, 以乙酸乙酯-甲酸-水(20: 2: 1)为展开剂展开, 晾干, 碘熏显色, 在可见光下观察, 与对照品相同位置上, 显相同的棕黄色斑点, 见图 4。

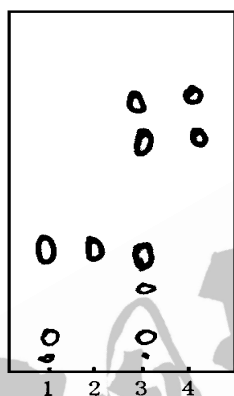


图 1 人工牛黄的鉴别 图 2 虎杖的鉴别
1. 药材 2. 对照品

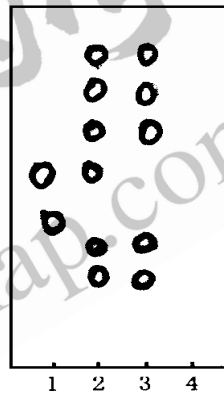
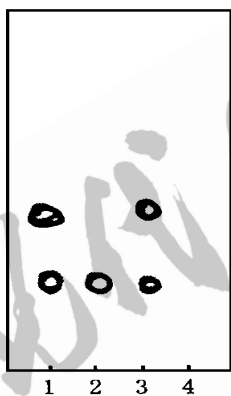


图 3 益母草的鉴别 图 4 龙胆的鉴别
3. 样品 4. 阴性

3 胆酸的含量测定

3.1 扫描波长的选择: 将胆酸标准品的对照品溶液, 点样于薄层板上, 展开, 取出, 晾干, 显色, 用 CS-9301 薄层扫描仪扫描, 在 528nm 有最大吸收。

3.2 色谱条件: 硅胶 G-0.3%CMC-Na 薄层板, 展开剂: 氯仿-乙醚-冰醋酸(2: 2: 1), 显色剂: 10% 硫酸乙醇溶液; 显色

温度: 100℃; 显色时间: 7min; 扫描波长: 528nm; 扫描方式: 反射式线性扫描。

3.3 含量测定方法专属性实验: 分别点胆酸对照品溶液, 人工牛黄提取液, 样品及缺人工牛黄的脑脉 II 号供试液于同一硅胶 G 薄层板上, 展开, 显色, 扫描, 结果见图 5。

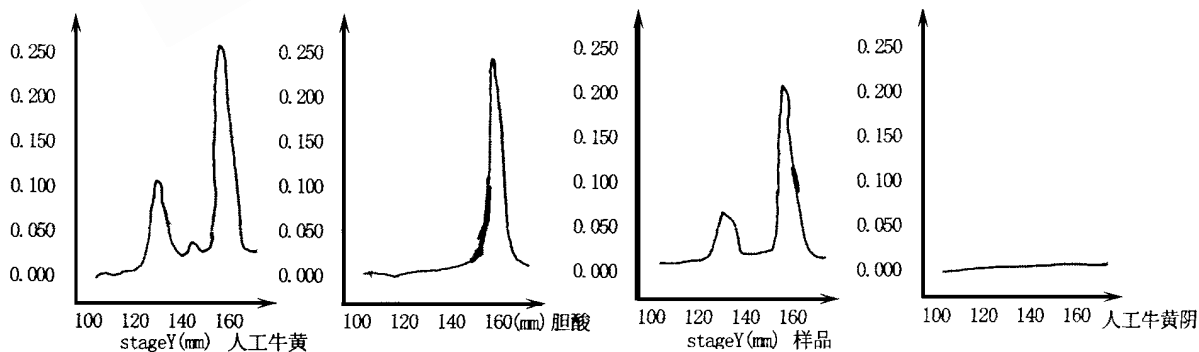


图 5 含量测定专属性实验

3.4 稳定性及点样精密度考察, 在同一薄层板上点 1 μ l 胆酸对照品溶液, 展开, 显色后在板上覆盖同样大小的玻璃板, 在干燥器中放置 20m in 后, 在不同时间测定吸收度, 结果斑点在显色后 4h 内稳定, 同板 CV 值= 4.10%。

3.5 异板精密度考察: 在五块薄层板上分别点 2 μ l 胆酸对照品, 展开, 取出, 晾干, 显色后 25m in 扫描, 结果异板 CV 值= 5.75%。

3.6 线性关系考察: 精密吸取标准品溶液 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 μ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 展开, 取出, 晾干, 显色, 扫描测定, 以点样量对扫描面积回归, 得方程: $A = 275.44x - 439.90$, $r = 0.999$, 线性范围在 2.65- 15.9 μ g 之间。

3.7 供试品溶液及对照品溶液的制备: 取本品 5 粒, 倾出内容物, 精密称定, 于 100ml 碘量瓶中加氯仿-冰醋酸(20: 1)溶液 20ml, 超声震荡 30m in, 滤过, 滤渣重复以上操作两次, 合并滤液并浓缩至干, 加乙醇溶解定容于 5ml 容量瓶中, 作为供试品溶液。取胆酸对照品约 50mg, 精密称定, 加乙醇溶解定容于 10ml 容量瓶中, 作为对照品溶液。

3.8 样品测定: 精密吸取对照品溶液 1 μ l, 3 μ l, 样品 4 μ l 各 3 份点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-乙醚-冰醋酸(2: 1: 1)为展开剂展开, 取出, 晾干。显色, 取出, 置干燥器中冷至室温, 扫描, 以外标两点法计算, 结果见表 1。

表 1 胆酸含量测定结果

批号	取样量 (g)	胆酸含量 (mg/g)				平均值 (mg/g)	RSD (%)
990805	5.9230	4.4	4.3	4.3		4.3	1.21
990803	3.2079	4.1	4.1	4.1		4.1	0.00
990920	5.0964	3.2	3.2	3.1	3.1	3.9	2.38

3.9 测定方法重复性实验:

分别称取同一批号样品约 5 份, 每份约 1.5g, 精密称定, 按上述方法测定其中胆酸含量, 结果分别为: 4.26mg/g, 4.18mg/g, 4.32mg/g, 4.17mg/g, 4.22mg/g, 平均含量 4.23mg/g, RSD 为 1.45%。

3.10 回收率实验:

精密称取 6 份已测胆酸含量的样品约 1.400g, 分别加入胆酸对照品, 按样品处理方法处理并测定, 结果见表 2。

表 2 胆酸含量测定回收率实验(n= 3)

样品重量 (g)	样品中含 胆酸量(mg)	对照品加 入量(mg)	实测量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1.5265	6.46	13.25	20.34	104.4		
1.4687	6.21	13.25	19.09	97.2	100.5	2.41
1.4592	5.45	13.25	18.66	99.7		
1.4767	6.25	13.25	19.65	101.1		
1.4409	5.42	2.65	8.102	101.2		
1.5276	5.74	2.65	8.37	99.2		

4 讨论

4.1 本方以人工牛黄清热熄风为方中主药, 人工牛黄中胆酸为有效成分之一且含量较高, 故选择胆酸为含量测定指标。

4.2 本方为纯浸膏粉装填胶囊, 样品易吸潮, 称量及提取前的操作需迅速时以防止其结块, 影响药物溶出。

4.3 作者曾试图给出水蛭和水牛角薄层鉴别, 因其均含有氨基酸, 且不易分离而没有成功, 其鉴别还有待进一步研究。

4.4 本仪器在选择扫描波长时, 采用斑点扫描图减去空白扫描图谱, 扫描结果基本消除了本底干扰, 因此选择单波长扫描。