

肠康颗粒的质量标准研究

张典瑞¹, 赵传胜², 荆凡波³, 王琳琳⁴ (1. 山东大学药学院药剂教研室, 山东 济南 250012; 2. 济宁市中医院药剂科, 山东 济宁 272137; 3. 青岛大学医学院附属医院药剂科, 山东 青岛 266003; 4. 沈阳市苏家屯中医院药剂科, 辽宁 沈阳 110101)

摘要:目的 制定肠康颗粒的质量标准。方法 采用薄层色谱法对肠康颗粒进行了定性鉴别, 采用薄层扫描法对肠康颗粒中的主要成分补骨脂素(psoralen)进行了含量测定。结果 本实验成功对方中主要药物补骨脂、五味子、白芍、肉豆蔻、陈皮、吴茱萸进行了薄层鉴别, 对方中补骨脂素含量进行了含量测定。结论 上述方法可作为该制剂的质量标准。

关键词: 肠康颗粒; 补骨脂素; 薄层色谱法; 薄层扫描法; 定性鉴别; 含量测定

中图分类号: R289.5; R284.1 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2003)03-0213-03

Study on quality criterion of changkang granules

ZHANG Dian-rui¹, ZHAO Chuan-sheng², ZHAO Chuan-sheng², JING Fan-bo³, WANG Lin-lin⁴ (College of Pharmacy, Shandong University, Jinan 250012, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the quality criterion of ChangKang granules. **METHOD** The thin layer chromatography (TLC) was used to identify the quality of Changkang granules and the thin layer chromatography scanner was used to determine the quantity of Psoralen, the main component in ChangKang granules. **RESULTS** This experiment succeeded in thin layer identification of the main drugs in the recipe, such as FRUCTUS PSORACEAE, FRUCTUS SCHISANDRAE CHINENSIS, RADIX PAEONIAE ALBA, SEMEN MYRISTICAE, PERICARPIUM CITRI RETICULATAE, FRUCTUS EVODIAE, and determining the quantity of Psoralen. **CONCLUSION** The methods above mentioned can be used as a quality criterion of this preparation.

KEY WORDS: Changkang granules; psoralen; thin layer chromatography (TLC); thin layer chromatography scanner; quality identification; quantity determination

肠康颗粒为名老中医验方改制而成的新的中药制剂, 主要有补骨脂、五味子、白芍、肉豆蔻、陈皮、吴茱萸等 10 味药组成, 具有温肾健脾、舒肝止泻的功效, 临床上对慢性肠炎、慢性溃疡性结肠炎、肠道易激综合征疗效确切。本实验采用薄层色谱法对方中大多数药物进行了薄层鉴别, 对方中君药补骨脂进行了含量测定, 初步制定了质量标准, 方法简单可行。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

CS-930 薄层扫描仪(日本岛津)、UV-1 型三用紫外分析仪(上海顾村电光仪器厂)、ER-182A 型电子天平(日本)。

1.2 试剂

补骨脂素、五味子乙素、橙皮苷、芍药苷、吴茱萸碱的对照品(中国药品生物制品检定所)、硅胶 G 预制板(上海药品检定所)、硅胶 G 和硅胶 GF₂₅₄ 均由青岛海洋化工厂生产, 中药材均购自济南建联药店, 经鉴定为药典正品, 各阴性样品供试液系除去处方中某味相应药物后按肠康颗粒制备工艺制备而成, 实验中所有试剂均为 AR 级。

2 定性鉴别

本实验参考文献方法^[1], 经反复实验, 成功地对方中主要药物补骨脂、五味子、白芍、肉豆蔻、陈皮、吴茱萸进行了薄层鉴别。其鉴别特征显著, 重现性好, 斑点清晰。

2.1 补骨脂的鉴别

称取肠康颗粒 4g, 研细, 加氯仿 50 mL, 加热回流提取 1 h, 过滤, 滤液浓缩至 2 mL, 作为样品供试液。另取缺补骨脂阴性样品和补骨脂阳性药材经同法制得补骨脂阴性和阳性对照液。补骨脂素对照品配成 1.05 μg/μL 氯仿溶液作为对照品标准液。取上述 4 种溶液各 4 μL 分别点于同一块 0.3 % CMC-Na 硅胶 G 薄层板上, 以苯-醋酸乙酯(9:1)为展开剂, 上行展开 15 cm, 取出, 晾干, 于紫外灯 365 nm 下观察。可见样品供试液在与阳性对照液和对照品标准液相应位置上显相同颜色的斑点。而阴性对照液色谱中无相应的斑点。

2.2 吴茱萸的鉴别

取肠康颗粒 4g, 研细, 加乙醇 50 mL, 加热回流提取 1 h, 滤过, 滤液浓缩至 2 mL, 作为样品供试液。另取缺吴茱萸阴性样品和吴茱萸阳性药材经同法制成阴性和阳性对照液。取吴茱萸碱对照品配成 1.0 μg/μL 的氯仿溶液, 为对照品标准液。分别取上述 4 种溶液各 4 μL 点于同一硅胶 G 薄层板

上,以正丁醇-醋酸-水(2:1:1)为展开剂,上行展开15cm,取出晾干,置紫外灯(365nm)下检视。可见样品供试液色谱中,在与阳性对照液和对照品标准液相应位置上,显相同颜色的斑点。而阴性对照液无相应的斑点。

2.3 五味子的鉴别

取肠康颗粒4g,研细,加氯仿50mL,加热回流提取1h,滤过,滤液浓缩至2mL,作为样品供试液。另取缺五味子阴性样品和五味子阳性药材经同法制成阴性和阳性对照液。取五味子乙素对照品配成1.0μg/μL的氯仿溶液,为对照品标准液。分别取上述4种溶液各4μL点于同一硅胶GF₂₅₄薄层板上,以石油醚-醋酸乙酯-甲酸(18:5:1)为展开剂,上行展开15cm,取出晾干,置紫外灯(254nm)下检视。可见样品供试液色谱中,在与阳性对照液和对照品标准液相应位置上,显相同颜色的斑点。而阴性对照液无相应的斑点。

2.4 肉豆蔻的鉴别

取肠康颗粒4g,研细,加苯50mL,加热回流提取1h,滤过,滤液浓缩至2mL,作为样品供试液。另取缺肉豆蔻阴性样品和肉豆蔻阳性药材经同法制成阴性和阳性对照液。取上述3种溶液各4μL点于同一硅胶G薄层板上,以石油醚(60-90℃)-苯(1:1)为展开剂,上行展开15cm,取出晾干,喷以10%硫酸-乙醇显色剂,晾干,105℃烘5min至斑点清晰。日光下检视。可见样品供试液色谱中,在与阳性对照液相应位置上,显相同颜色的斑点。而阴性对照液无相应的斑点。

2.5 白芍的鉴别

取肠康颗粒4g,研细,加乙醇30mL,加热回流提取1h,滤过,滤液浓缩至2mL,作为样品供试液。另取缺白芍的阴性样品同法制成阴性对照液。取芍药苷对照品配成1.0μg/μL的乙醇溶液,为对照品标准液。分别取上述4种溶液各4μL点于同一硅胶G薄层板上,以氯仿-甲醇-甲酸(5:1:0.1)为展开剂,上行展开15cm,取出,晾干,喷以10%硫酸-乙醇显色剂,晾干,105℃烘5min,日光下检视。可见样品供试液色谱中在与阳性对照液和对照品标准液相应位置上,显相同颜色的斑点。而阴性对照液无相应的斑点。

2.6 陈皮的鉴别

取肠康颗粒4g,研细,加入甲醇30mL,加热回流0.5h,滤过,滤液浓缩至2mL,作为样品供试液。另取缺陈皮阴性样品和陈皮阳性药材经同法制成阴性和阳性对照液。取橙皮苷对照品配成甲醇的饱和溶液,为对照品标准液。分别取上述4种溶液各4μL点于同一5%NaOH制备的硅胶G薄层板上,以醋酸乙酯-甲醇-水(100:17:13)为展开剂,上行展开6cm,取出,晾干,再用甲苯-醋酸乙酯-甲酸-水(20:10:1:1)的上层液展开约12cm,取出晾干,置紫外灯(365nm)下检视。可见样品供试液色谱中,在与阳性对照液和对照品标准液相应位置上,显相同颜色的斑点。而阴性对照液无相应的斑点。

3 补骨脂素的含量测定

3.1 分析条件的选择 3.1.1 提取方法的选择 曾试验比较超声提取和索氏回流提取,均用氯仿做提取溶剂,提取时

间相同,提取液浓缩后,点样,展开,用薄层扫描法测定含量。结果表明索氏回流提取的效果要明显高于超声提取。

3.1.2 薄层色谱条件的选择 (1)薄层板的制备 称取硅胶G16g,加3倍量的0.3%CMC-Na水溶液,制成0.3mm厚,20×20cm的薄层板4块,室温晾干后于105℃活化1h。(2)展开剂的选择 曾比较苯-醋酸乙酯(9.5:0.5),苯-醋酸乙酯(9:1)两种展开系统的分离效果,结果表明后者分离效果较好。故选用后者为展开剂。

3.1.3 扫描条件的选择 扫描测定波长(λ)的选择:吸取标准品液及样品液适量点于同一薄层板上,按上述条件展开,吹干,在紫外检测器(365nm)下确定斑点位置,用CS-930进行光谱扫描。补骨脂素在300nm处有最大吸收,故确定300nm为测定波长。

扫描方式:为单波长反射式锯齿扫描,狭缝:1.2×1.2mm, SX=7,灵敏度中。

3.2 标准曲线的绘制

精密称取补骨脂素对照品10mg,加甲醇溶解,定容于10mL量瓶中,即得浓度为1mg/mL的补骨脂素对照品溶液。用微量进样器精密吸取补骨脂素对照品溶液1,3,5,7,9μL,点于硅胶G薄层板上,以苯-醋酸乙酯(9:1)为展开剂上行展开,展距15cm,取出,挥干溶剂,于紫外检测器365nm下观察荧光。定位后进行薄层扫描(扫描条件:λ300nm,单波长反射式锯齿扫描,狭缝1.2×1.2mm, SX=7,灵敏度中)。以点样量为横坐标,以峰面积的积分值为纵坐标作图,得标准曲线图。回归方程: $y = 27.568.735x - 15.312.625$, 相关系数 $r = 0.9986$ 。结果表明补骨脂素在1~9.45μg范围内线性关系良好。

3.3 精密度试验

测定仪器的精密度,采用对同一斑点连续扫描5次,其峰面积积分值的RSD=1.16%(n=5);测定同板精密度,采用在同一薄层板上不同位置点同样量,然后扫描测定,其RSD=2.995%(n=5);测定异板精密度,采用在不同薄层板上点相同量,然后扫描测定,其峰面积RSD=0.64%(n=5)。

3.4 稳定性试验

精密吸取补骨脂素对照品溶液,按上述条件展开,从晾干后15min起测定一次,30min测定一次,以后每隔0.5h测定一次,考查补骨脂素在4h内稳定性,其峰面积的RSD=1.39%,结果见表1。

表1 补骨脂素稳定性

Tab 1 Stability of psoralen

时间(h)	峰面积积分值	时间(h)	峰面积积分值
0.25	80 230.8	2.50	83 700.1
0.5	83 065.3	3.00	83 846.3
1.00	83 327.1	3.50	83 868.9
1.50	83 536.1	4.00	83 926.6
2.00	83 614.5		

3.5 加样回收率试验

采用加样回收法,精密量取已知含量的同一批样品3份,分别加入两个不同量的补骨脂素对照品,加氯仿100mL

于索氏回流提取器中回流提取 6h,过滤,滤液浓缩,加氯仿定容于 2 mL 的量瓶中,经点样、展开、扫描,测定平均回收率为 99.15 %。

3.6 样品的含量测定

精密称取三批样品各 1g,精密称定,加氯仿 100 mL 于索氏回流提取器中提取 6h,过滤,滤液浓缩至 2 mL 的容量瓶中,用氯仿稀释至刻度,制备成样品液。经点样、展开、晾干后,用薄层扫描法测定含量。三批样品的测定结果见于表 2。

表 2 样品含量测定结果

Tab 2 Quantity determination of the samples			
样品批号	补骨脂素含量 (mg/ 袋)	平均含量 (mg/ 袋)	RSD (%)
2000116	10.6463	11.0009	2.79
2000126	11.1628		
2000206	11.1935		

4 小结与讨论

4.1 据文献报道^[3],补骨脂素可溶于乙醇、氯仿、苯等有机溶剂。用乙醇作提取溶剂,由于乙醇的极性较大,薄层色谱过程中拖尾现象十分严重,分离效果不理想。实验中选用氯仿作提取溶剂,获得了较为理想的分离效果。

4.2 在五味子的定性鉴别中,曾参考药典七味都气丸的鉴别方法,并在其基础上进行了调整,采用石油醚-醋酸乙酯-甲酸(18:5:1)的上层液为展开剂,结果空白干扰少,斑点分离效果较好。

4.3 在肉豆蔻的定性鉴别中,曾参考药典四神丸的鉴别方法,并在其基础上进行改进简化,最后确定了本制剂肉豆蔻

的鉴别方法。

4.4 在白芍的定性鉴别中,曾选用正丁醇-醋酸-水(2:1:1)、氯仿-醋酸乙酯-甲醇-甲酸(40:5:10:0.2)等多种展开系统,但由于样品中成分复杂、干扰较多而使分离效果较差。本实验采用氯仿-甲醇-甲酸(5:1:0.1)为展开剂,获得了较为理想的分离效果。

4.5 在测定补骨脂素含量时,曾对单波长扫描和双波长扫描进行了对比实验,试验结果一致,又因双波长扫描时间较长,故本研究采用单波长反射式锯齿扫描。

4.6 由标准曲线可知,标准曲线不过原点,故测定样品含量时,应选用外标两点法。这就要求每次点样量应与对照品取用量尽可能一致,并使其在线性范围之内。这样可减少测定误差,提高准确性。

4.7 由样品含量测定、回收率结果可看出,肠康颗粒中补骨脂素的含量比较稳定。

参考文献

[1] 中国药典.1995 年版一部[S].1995
[2] 陈洛怡.腰痛片中补骨脂素和异补骨脂素的含量测定[J].中成药,1989;11(10):14.
[3] 许树梧.补骨脂注射液含量测定方法[J].中草药,1982;13(8):13.
[4] 孙毓庆.薄层扫描法及其在药物分析中的应用[M].第 1 版,北京:人民卫生出版社,1990,83.

收稿日期:2001-09-07