

• 论著 •

四神丸质量控制的实验研究

甄汉深 辛 宁 韦 洪*
(广西中医学院 南宁 530001)

摘要 采用薄层色谱法对四神丸进行定性研究,并采用薄层扫描法测定其补骨脂素和异补骨脂素的含量。建议本法用于四神丸的质量控制。

关键词 四神丸 薄层色谱 补骨脂素 异补骨脂素 薄层扫描

Experimental Studies on the Quality Control of Sishen Pill

Zhen Hanshen, Xin Ning ang Wei Hong

(Guangxi College of Traditional Chinese Medicine, Nanning, 530001)

Abstract: TLC was used qualitative to study Sishen Pill. The contents of psoralen and isopsoralen in the pills were successfully determined by TLC-densitometry, indicating that this method can be used for quality control of Sishen Pills.

Key words: Sishen Pill, TLC, Psoralen, Isopsoralen, TLCS

四神丸为常用中成药,收载于中国药典,由肉豆蔻(煨)、补骨脂(盐炒)、五味子(醋制)、吴茱萸(制)、大枣(去核)组成。具有温肾暖脾,涩肠止泻之功效。用于命门火衰,脾肾虚寒,五更泄泻或便溏腹痛,腰酸肢冷等症。在其质量标准中,鉴别项目不完善,又无含量测定项。95年版中国药典也无定量^[1]。本文采用薄层色谱法对方中主药分别进行定性鉴别。并采用薄层扫描法测定其有效成分补骨脂素和异补骨脂素含量,效果满意,现报道如下。

1 材料与仪器

对照药材购自南宁药材站,经本院周子静教授鉴定补骨脂为豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 的干燥成熟果实;五味子为木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实;肉豆蔻为肉

豆蔻科植物肉豆蔻 *Myristica fragrans* Houtt 的干燥种仁;吴茱萸为芸香科植物吴茱萸 *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. 干燥近成熟果实。对照品:补骨脂素、异补骨脂素(含量100%)均为中国药品生物制品检定所提供。

样品 四神丸(本院研制品,批号950101~950105)

硅胶 GF₂₅₄(青岛海洋化工厂产品)

实验所用试剂均为分析纯。

仪器 CS-9000 双波长飞点快速扫描仪,紫外分析仪(均为日本岛津);定容毛细管(Drommond Scientific co USA);PBQI型薄层自动铺板器(重庆南岸新力实验电器厂)。

2 实验方法和结果

2.1 TLC 定性鉴别

样品液制备 称取四神丸样品粉末适量(五味子 14g;吴茱萸 22g;补骨脂 2g;肉豆蔻

11g),加适量溶剂[五味子、肉豆蔻分别用石油醚(30~60℃)25ml;吴茱萸用无水乙醇25ml;补骨脂用氯仿15ml],冷浸24h,过滤,滤液浓缩至5ml备用。

阳性对照液制备 称取该药的原药材粉末适量(五味子2.5g;吴茱萸、补骨脂、肉豆蔻分别为2g),制法同上。

阴性对照液制备 称取除去该药以外的四神丸模拟丸粉末适量(五味子11.5g;吴茱萸20g;补骨脂4g;肉豆蔻9g),制法同上。

2.1.1 五味子鉴别 分别取上述三种溶液,用毛细管点于同一硅胶G_{F₂₅₄}(0.7% CMC-Na)薄层板上,以石油醚(30~60℃)-乙酸乙酯(15:5)为展开剂展开,展距12cm,晾干,于紫外灯(254nm或365nm)下观察,结果见图1。

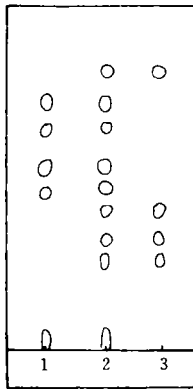


图1 四神丸中五味子 TLC 图谱

1. 阴性对照液 2. 样品供试液 3. 阳性对照液
注:斑点均为蓝紫色

2.1.2 吴茱萸鉴别 分别取上述三种溶液,用毛细管点于同一硅胶G(CMC-Na0.5%)薄层板上,以氯仿-甲醇-石油醚(30~60℃)(9:0.5:0.5)为展开剂展开,展距12cm,取出晾干后,喷以碘化铋钾试液,105℃加热约5min,结果见图2。

2.1.3 补骨脂鉴别 分别取上述3种溶液和补骨脂素、异补骨脂素对照液(取补骨脂素和异补骨脂素适量,分别以无水乙醇5ml溶解制成),点于同一硅胶G(CMC-Na0.7%)薄层板上,以苯-乙酸乙酯(9.5:0.5)为展开

剂展开,展距12cm,晾干后于紫外灯(254nm或365nm)下观察,结果见图3。

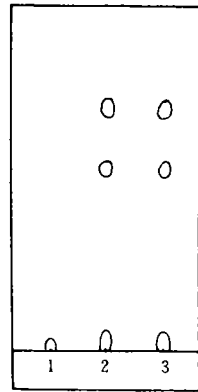


图2 四神丸中吴茱萸 TLC 图谱

1. 阴性对照液 2. 样品供试液
3. 阳性对照液 注:斑点均为淡橙红色

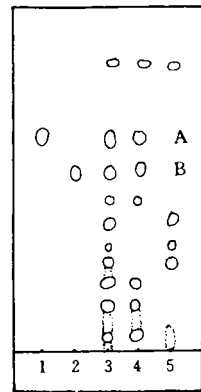


图3 四神丸中补骨脂 TLC 图谱

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 B. 浅蓝

2.1.4 肉豆蔻鉴别 分别取上述3种溶液,用毛细管点于同一硅胶G(CMC-Na0.7%)薄层板上,以石油醚(30~60℃)-乙酸乙酯(9.4:0.6)为展开剂,展距12cm,以10%香草醛浓硫酸液喷雾显色,晾干后于110℃烘5分钟,结果见图4。

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℃烘4h的四神丸粉末约2g,置索氏提取器中,以氯仿回流提取至无色,提取液浓缩定容至10ml容量瓶中。

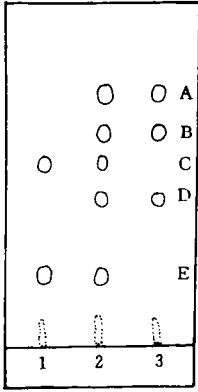


图4 四神丸中肉豆蔻 TLC 图谱

1. 阴性对照液 2. 样品供试液 3. 阳性对照液
 A. 淡黄 B. 蓝紫 C. 棕 D. 暗蓝 E. 淡黄

2.2.2 对照液制备 用十万分之一分析天平,分别称取对照品适量,加95%乙醇溶解、定容,分别制成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),用电动搅拌器搅匀后,用自动铺板器铺板(10cm×20cm×0.5cm),晾干,于105℃活化1h,置干燥器备用。展开剂:苯-乙酸乙酯(9.5:0.5)。

2.2.4 薄层定性 在同一薄层板上分别点样品液和对照液适量,按上述条件展开,展距15cm,晾干后置紫外灯(365nm)下观察,结果见图3。

2.2.5 扫描条件 对上述两者 R_f 值相同斑点,在200~370nm波长处进行光谱扫描,结果表明补骨脂素与四神丸在297nm波长处,异补骨脂素与四神丸在300nm波长处有最大吸收,而在360nm波长处吸收较小。故采用:补骨脂素为 $\lambda_s=297nm, \lambda_R=360nm$;异补骨脂素为 $\lambda_s=300nm, \lambda_R=360nm$,双波长反射法锯齿型扫描,见图5、6。

2.2.6 线性关系考察 用定溶毛细管分别精密吸取补骨脂素对照液1、2、3、4、5 μ l,点样,按上述条件展开,扫描测定其峰面积,得回归方程:

$$Y=17329.6X+5693.2 \quad r=0.9992$$

同法测得异补骨脂素的回归方程:

$$Y=18406.4X+14331.6 \quad r=0.9995$$

2.2.7 精密性试验 精密吸取对照品溶液2 μ l点于薄层板上连续扫描5次,面积的RSD:异补骨脂素为0.46%,补骨脂素为0.50%;同一样品在同一薄层不同位置点样测得结果的RSD:补骨脂素为1.05%,异补骨脂素为1.12%(n=5);同一样品在不同薄层点样测得结果,补骨脂素RSD \leq 3.10%;异补骨脂素RSD \leq 3.60%。

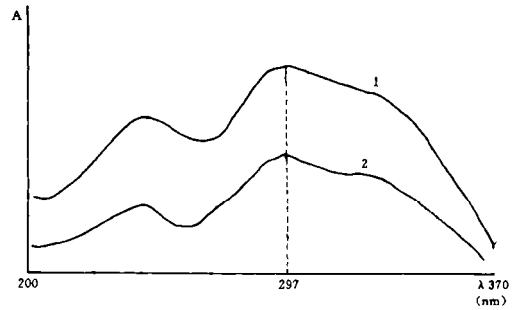


图5 补骨脂素光谱扫描图

1. 补骨脂素 2. 四神丸

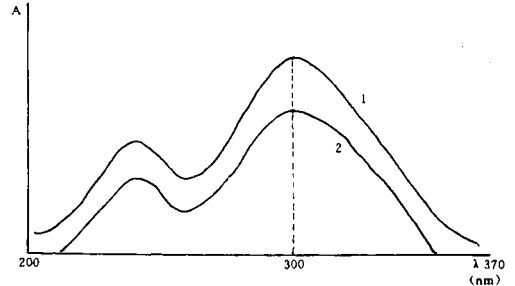


图6 异补骨脂素光谱扫描图

1. 异补骨脂素 2. 四神丸

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=0.94%,n=9,异补骨脂素RSD=0.85%,n=9。表明两者至少在4h内稳定。

2.2.9 样品测定 分别精密吸取样品液3 μ l,补骨脂素,异补骨脂素对照液2 μ l及3 μ l,分别点于同一薄层板上,按上述条件展开,扫描测定其峰面积,按外标两点法计算,结果见

表 1。

表 1 四神丸中补骨脂素、异补骨脂素含量(%)

样品批号	补骨脂素	RSD	异补骨脂素	RSD
950101	0.1126	1.59	0.1571	2.19
950102	0.1239	2.58	0.1542	3.60
950103	0.1207	1.88	0.1589	2.59
950104	0.1183	2.79	0.1443	3.19
950105	0.1246	3.10	0.1469	2.05

注: n=4

2.3.0 加样回收率测定 精密称取对照品补骨脂素、异补骨脂素适量,加入样品中,按样品测定项下方法进行测定,结果见表 2。

3 讨论

3.1 实验结果表明,采用本法进行定性简单、方便,样品只需简单浸泡,浓缩后即可点样,展开后可排除方中其它群药的干扰。从 TLC 结果看,阳性与样品可供鉴别的特征斑点多而明显,而阴性对照在此 R_f 值内无这些斑点,本法专属性强。

3.2 在含量测定中,曾采用多种展开剂进行预试,以本系统所得斑点分离度较好,斑点圆

而集中。在样品提取时,以提至无色为度。在预试中,提取后,样品残渣温热浸泡后,浓缩点样与补骨脂素、异补骨脂素对照在相同 R_f 值处无荧光斑点为提尽。

表 2 加样回收率测定结果

组分	测得量 mg	回收率 %	平均回收率 %	RSD %	
补骨脂素	1	0.6412	98.71		
	2	0.6371	98.08		
	3	0.6315	97.21	98.71	1.13
	4	0.6467	99.55		
	5	0.6495	99.98		
异补骨脂素	1	0.7886	99.57		
	2	0.7844	99.04		
	3	0.7909	99.86	98.85	1.05
	4	0.7806	98.56		
	5	0.7699	97.21		

注:加入量补骨脂素均为 0.6496mg;异补骨脂素均为 0.7920mg

参 考 文 献

- [1] 卫生部药典委员会. 中国药典一部. 广州: 广东科技出版社, 1995: 462