

复方梔黄胶囊质量标准研究

吴科锋^{1*}, 陈日檬², 李延平¹

(1. 广东医学院广东天然药物研究与开发实验室, 湛江 524023;

2. 湛江市药品检验所, 湛江 524037)

[摘要] 目的: 建立复方梔黄胶囊的质量控制方法。方法: 采用薄层色谱法对方中 大黄和梔子进行了鉴别, 用薄层扫描法测定复方梔黄胶囊中大黄素的含量。结果: 通过方法学考察, 大黄素点样量在 0.299 4 ~1.769 4 μg 稳定, 点样量与斑点积分值呈良好线性关系, 大黄素平均加样回收率为 98.1%, RSD 为 1.63%。结论: 该方法简单、准确、重复性好, 可用于控制复方梔黄胶囊的质量。

[关键词] 薄层鉴别; 薄层扫描; 大黄素; 大黄; 梔子; 含量测定; 复方梔黄胶囊

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)04-0068-02

复方梔黄胶囊是由大黄、梔子、甘草、覆盆子、泽泻和甘草等 7 味中药组成的复方制剂, 用于急慢性肾小球肾炎, 急性肾衰等疾病的治疗。为有效控制产品质量, 本实验用薄层鉴别法对方中 大黄、梔子进行了定性鉴别, 采用双波长薄层扫描法测定了大黄中大黄素的含量, 为建立完整质量标准提供了依据。

1 仪器与试剂

仪器: CS9301 型薄层扫描仪(日本岛津), 定量毛细管(美国 Drummond Scientific Co), 硅胶 G 薄层板(青岛洋化工厂), 试剂: 复方梔黄胶囊(广东天然药物研究与开发实验室), 大黄对照药材(中国药品生物制品检定所, 1249-0301), 大黄素对照品(中国药品生物制品检定所, 110756-200110), 梔子对照药材(中国药品生物制品检定所, 120986-200303), 梔子苷对照品(中国药品生物制品检定所, 110749-200309), 其余试剂均为分析纯。

2 定性鉴别

2.1 大黄的鉴别 取本品内容物约 2.0 g, 加甲醇 20 mL 超声提取 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 20 mL 使溶解, 再加盐酸 1 mL, 水浴加热 30 min, 立即冷却, 用乙醚振摇提取 2 次, 每次 20 mL, 合并乙醚液, 挥干, 残渣加 1 mL 甲醇 1 mL 使溶解作供试品溶液。另取大黄对照药材 0.1 g 同法制成对照药材

溶液, 取大黄素对照品, 加甲醇制成 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 得对照品液。照薄层色谱法试验, 吸取上述 3 种溶液各 5 μL , 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上, 以苯-乙酸乙酯-冰醋酸(15:5:0.3)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外灯(365 nm)下检视。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显 5 个相同的橙色荧光斑点; 在与对照品色谱相应位置上, 显相同橙色荧光斑点, 置氨熏后, 斑点变为红色。

2.2 梔子的薄层鉴别 取本品内容物约 2.0 g, 乙醚 20 mL 振摇提取 10 min, 弃去乙醚, 残渣挥去乙醚, 加乙酸乙酯 20 mL, 置水浴上回流 1 h, 放冷, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加乙醇 1 mL 使溶解作供试品溶液。另取梔子对照药材 0.1 g, 同法制成对照药材溶液, 取梔子苷对照品, 加甲醇制成 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 得对照品液。照薄层色谱法(附录 B)试验, 吸取样品液 10 μL , 对照药材及对照品液 5 μL 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上, 以乙酸乙酯-丙酮-甲酸-水(10:7:2:0.5)的为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外灯(365 nm)下检视。供试品色谱中, 喷以 10% 磷钼酸乙醇溶液, 在 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照药材及对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。

3 含量测定

3.1 对照品溶液的制备 精密称取经五氧化二磷干燥至恒重的大黄素对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.3 mg 的溶液, 作为对照品液。

3.2 供试品溶液的制备 取本品内容物, 混匀, 取

[收稿日期] 2009-09-17

[通讯作者] * 吴科锋, Tel: (0759) 2388405; E-mail: winvee@gdmc.edu.cn

约 0.3 g, 精密称定, 置圆底烧瓶中, 加 30% 硫酸溶液 10 mL, 再加三氯甲烷在水浴上回流提取 4 次 (30, 20, 20, 20 mL), 第 1 次 2 h, 第 2, 3, 4 次每次 30 min, 每次回流后小心吸出三氯甲烷液, 合并三氯甲烷液, 置分液漏斗中, 用适量水洗涤, 三氯甲烷液, 蒸干, 残渣加三氯甲烷-甲醇 (1:1) 使溶解, 至 5 mL 量瓶中定容, 作为供试品液。

3.3 阴性对照品溶液的制备 取不含大黄的胶囊, 同 3.2 项下操作方法制备。

3.4 波长测定条件 取大黄素对照品 3 μL 点于薄层板上, 另取样品及阴性样品按供试品溶液制备项下制得供试品液, 取 8 μL, 点于薄层板上, 以上述层析条件展开, 取出, 晾干。置薄层扫描仪中, 在波长 370 ~ 700 nm 范围内进行光谱扫描, 结果选得测定波长 $\lambda_s = 440$ nm, 参比波长 $\lambda_R = 560$ nm。阴性样品在 560 nm 处无吸收。

3.5 线性关系考察 别精密吸取对照品液 1, 2, 3, 4, 5, 6 μL 点于同一硅胶 G 薄层板上, 以上述层析条件展开, 扫描测定各斑点积分值。以斑点峰面积积分为纵坐标, 点样量为横坐标, 求得回归方程: $Y = 2829.5X + 591.91$, $r = 0.998$, $n = 6$ 。结果表明: 大黄素点样量在 0.299 4 ~ 1.769 4 μg 稳定, 点样量与斑点积分值呈良好线性关系。

3.6 稳定性实验 取供试品液 8 μL, 对照品液 1 μL、3 μL, 按样品测定项下依法测定, 每隔 1 h 扫描 1 次, 共测定 0 ~ 4 h, 测得峰面积积分值, 结果见表 1。在本实验条件下, 大黄素含量在 4 h 内稳定。

3.7 精密度考察 在同一薄层板上, 点 5 个相同量的大黄素对照品溶液, 依法展开, 测定结果的 RSD 3.36%。

3.8 重复性试验 精密吸取同一批号样品 5 份, 按供试品的制备方法制备, 依法展开, 扫描, 测得样品平均质量分数 0.231 7 mg/粒, RSD 3.36%。

3.9 加样回收率试验 在已知含量样品中, 精密加入一定量的大黄素对照品, 依法测定, 并计算平均回收率, 结果见表 1。

表 1 大黄素回收率试验

供试品含量 / mg	对照品加入量 / mg	测得量 / mg	回收率 / %	平均回收率 / %	RSD / %
0.235 3	0.099 8	0.324 2	96.7		
0.235 3	0.199 6	0.421 5	96.9		
0.235 3	0.299 4	0.520 2	97.3	98.1	3.36
0.235 3	0.399 2	0.645 6	99.7		
0.235 3	0.199 6	0.734 6	100.0		

3.10 样品测定 精密称取本品内容物 0.3 g, 按供试品液制备方法制得供试品液, 精密吸取样品液 8 μL, 对照品 1 μL、3 μL, 交叉点于薄层板上, 依法展开测定, 3 批样点含量分别为 0.235 3, 0.217 9, 0.124 7 mg/粒。

4 讨论

复方梔黄胶囊来自民间验方, 对肾炎有良好的疗效。方中的君药大黄、梔子等从现代医学的角度已被证实能促进尿素和肌酐随尿液排泄, 使肠内氨基酸吸收减少, 抑制体蛋白分解从而减少非蛋白氮的来源, 而使肝、肾组织中尿素氮合成减少^[1]。甘草则能调和百味, 中和方中大黄等泻下药材之毒性。

由于大黄和梔子同为方中君药, 因此选用此 2 味药材进行薄层鉴别。但大黄在方中所起作用更为重要, 因此选取大黄做含量测定的药材, 且大黄的蒽醌类化合物大黄素现已证实既具泻下, 又有抗菌作用。在该方中, 其他药材对其干扰较少, 因此在含量测定中, 选用大黄素作定量指标, 分别采用甲醇浸出后乙醚萃取和直接加酸水氯仿回流提取^[2]两种方法进行方法学考察。结果发现 2 种方法的得率和回收率基本一致, 但后者在操作步骤上要比前者简练, 故选用该法为本方质量标准研究选用方法。

尽管紫外分光光度法也可测定大黄素含量, 操作更为简单易行, 但大黄药材中的其它蒽醌类物质, 会产生干扰, 使样品提取更复杂, 故不宜采用。薄层扫描法测定大黄素含量文献较多^[3], 此方法较成熟, 有一定的可行性, 实验结果也表明了该方法的准确可靠且简便, 成本低, 重复性好。

[参考文献]

- [1] 肖敬, 康海燕, 王艳丽. 吴金玉教授运用对药治疗狼疮肾炎的经验[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(6): 1542.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 17.
- [3] 傅春升, 孙洪胜, 周鹏. 薄层扫描法测定大黄膏中大黄素含量[J]. 中国医院药学杂志, 2001, 21(2): 85.