

# 胃和冲剂 I 号质量标准的研究

宋美丹, 麻春杰\*

(内蒙古医学院中医学院, 内蒙古 呼和浩特 010110)

**[摘要]** 目的: 建立胃和冲剂 I 号的质量标准。方法: 采用薄层色谱法(TLC)对胃和冲剂 I 号中的半夏、黄芪、白芍、党参进行鉴别; 采用高效液相色谱法(HPLC)测定制剂中芍药苷含量。结果: 薄层色谱斑点清晰, 分离良好, 阴性对照无干扰。芍药苷在(0.058 48~ 0.643 3)  $\mu\text{g}$  之间呈良好的线性关系。平均加样回收率为 103.56% ( $n=6$ ), RSD= 0.70%。结论: 该方法灵敏、简便、准确和重复性好, 可作为胃和冲剂 I 号的质量控制标准。

**[关键词]** 胃和冲剂; 芍药苷; 高效液相色谱法; 薄层色谱法

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2009)10-0027-03

胃和冲剂是内蒙古自治区名老中医、原内蒙古医学院中蒙医系米子良教授经多年理论研究和临床实践, 创制的用于治疗消化性溃疡、慢性胃炎的系列复方颗粒制剂<sup>[1-6]</sup>。其中胃和冲剂 I 号处方中含有半夏、党参、黄芪、白芍、炙甘草等, 具有益气缓急, 制酸止痛功效, 主要用于治疗脾胃虚寒型。为有效控制其内在质量, 本研究对半夏、黄芪、白芍、党参进行了薄层色谱鉴别, 用高效液相色谱法对制剂中芍药苷进行含量测定。

## 1 仪器与试剂

试剂: 硅胶 GF254、硅胶 G(青岛海洋化工厂); 黄芪甲苷对照品(批号: 120974-200407)、芍药苷对照品(批号: 110736-200526) 供含量测定用, 均由中国药品生物制品检定所提供, 半夏药材(批号: 110745-200605)、黄芪药材(批号: 924-200805)、白芍药材(批号: 1290-200805)、党参药材(批号: 326-200605) 均由内蒙古自治区中蒙医院提供, 胃和冲剂 I 号(规格: 12 g/袋) 及阴性对照均由内蒙古自治区中蒙医院国家蒙药制剂中心制备(批号: 20080201, 20080202, 20080203)。甲醇为色谱纯, 水为纯化水, 磷酸其余试剂均为分析纯。

仪器: JASCO V-530 型紫外分光光度计(日本)、UV-1601 紫外可见光谱仪、waters 高效液相色谱仪;

waters 2487 紫外检测器; Millennium32 色谱工作站、KQ-250 超声波清洗器、BP-211D 电子分析天平(德国)。

## 2 方法与结果

### 2.1 定性鉴别

**2.1.1 半夏的 TLC 鉴别**<sup>[7]</sup> 取本品 5 g, 研细, 加甲醇 30 mL 置水浴中加热回流 1 h, 滤液浓缩至约 5 mL 取上清液约 1 mL 做为供试品溶液。另取半夏对照药材 1 g, 同法制成对照品溶液。

另取不含半夏阴性供试品 5 g 同法制成阴性对照溶液。按照薄层色谱法吸取上述 3 种溶液各 5  $\mu\text{L}$ , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正丁醇-冰醋酸-水(8:3:1) 为展开剂展开, 取出, 晾干, 喷茛菪三酮显色。加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照药材的对照品溶液色谱相应的位置上, 显示相同颜色的斑点。阴性对照溶液色谱中无相应的斑点。

**2.1.2 黄芪的 TLC 鉴别**<sup>[7]</sup> 取本品粉末 3 g, 研细, 加正丁醇 50 mL, 加热回流 2 h, 滤过, 滤液用 1% 氢氧化钠溶液洗涤 2 次, 每次 20 mL, 弃去碱液, 再用正丁醇饱和的水 20 mL 洗涤, 弃去水层, 正丁醇液于水浴上蒸干, 残渣加甲醇 0.5 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取黄芪甲苷对照品, 加甲醇制成 1 mL 含 1 mg 的溶液, 作为对照品溶液。另取黄芪药材粉末 10 g, 同供试品溶液的制备方法制得药材对照品溶液。另取不含黄芪阴性供试品 3 g, 同供试品溶液上法作为阴性对照溶液。按照薄层色谱法试验, 吸取上述 4 种溶液各 5  $\mu\text{L}$ , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-甲醇-水(63:35:10) 10  $^{\circ}\text{C}$  以下放置的下层

**[收稿日期]** 2009-01-23

**[基金项目]** 内蒙古自治区自然科学基金资助项目(980204)

**[通讯作者]** \* 麻春杰, Tel: 13514819729; E-mail: mcj2007@yahoo.com.cn

溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 于 105 °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。阴性对照溶液色谱中无相应的斑点。

**2.1.3 白芍的 TLC 鉴别<sup>[7]</sup>** 取本品粉末 0.5 g, 加乙醇 10 mL, 超声处理(功率 240 W, 频率 45 kHz) 15 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加乙醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取芍药苷对照品, 加乙醇制成每 1 mL 含 1 mg 溶液作为对照品溶液。另取白芍药材粉末 5 g, 同供试品溶液的制备方法制得药材对照品溶液。另取不含白芍阴性供试品 0.5 g 同供试品溶液上法作为阴性对照溶液。按照薄层色谱法吸取上述 4 种溶液各 10  $\mu$ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 一次展开: 三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(40: 5: 10: 0.2), 二次展开: 三氯甲烷-甲醇-甲酸(6: 1: 0.02), 5% 香草醛浓硫酸显色。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, 显示相同的蓝紫色的斑点。阴性对照溶液色谱中无相应的斑点。

**2.1.4 党参的 TLC 鉴别<sup>[7]</sup>** 取本品粉末 1 g, 加甲醇 30 mL 置水浴中加热回流 1 h, 滤液浓缩至约 5 mL 取上清液约 1 mL 做为供试品溶液。另取药材 10 g 碎末, 方法同供试品溶液的制备药材对照品溶液。另取不含党参阴性供试品 1 g 同供试品溶液上法作为阴性对照溶液。按照薄层色谱法吸取供试品溶液 6  $\mu$ L, 阴性对照品溶液 2  $\mu$ L, 对照药材溶液 2  $\mu$ L 分别点于同一高效硅胶 G 薄层板上, 以正丁醇-冰醋酸-水(7: 1: 0.5) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 的硫酸乙醇溶液, 105 °C 加热 5 分钟, 供试品色谱中, 在与对照药材的对照品色谱相应位置上, 显示相同颜色的棕褐色斑点。阴性对照溶液色谱中无相应的斑点。

## 2.2 HPLC 芍药苷含量测定

**2.2.1 色谱条件** 色谱柱: kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m); 以甲醇-0.1% 磷水溶液(42: 58) 为流动相<sup>[8]</sup>; 检测波长为 230 nm; 流速为 1.0 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>; 柱温为室温; 10  $\mu$ L 定量环进样; 理论塔板数按芍药苷峰计不低于 7 000; 定量方法采用外标法。

**2.2.2 对照品溶液的制备<sup>[7]</sup>** 精密称取芍药苷对照品 7.31 mg, 置于 25 mL 的量瓶中用 95% 的乙醇定容即得。

**2.2.3 供试品溶液的制备<sup>[7]</sup>** 精密称取供试品 500 mg, 置 50 mL 的量瓶中, 加稀乙醇 35 mL 溶解, 超声

处理(功率 240 W 频率 45 kHz) 30 min, 以 0.1% 磷酸水定容即得。

**2.2.4 干扰试验** 本文取芍药苷对照品、供试品溶液和不含白芍的阴性样品按上述色谱条件分别取其 3 种溶液各 10  $\mu$ L 注射进入 HPLC, 得到如图 1 所示的谱图, 从图中可以看到样品与芍药苷对照品在同一时间出现芍药苷峰, 且样品谱图中无明显的干扰峰, 可以用来作定量检测。

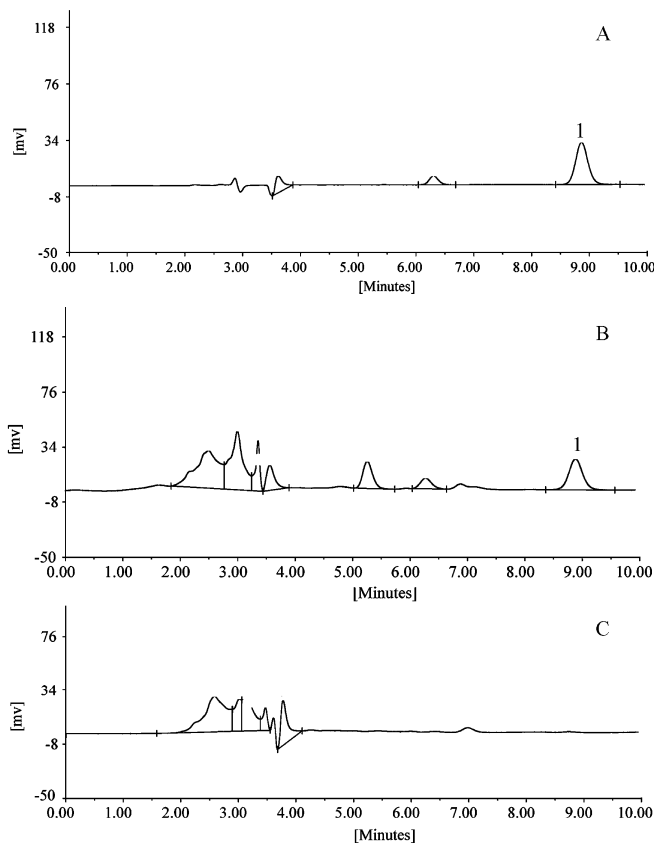


图 1 芍药苷对照品、供试品和阴性对照的 HPLC 谱

A. 芍药苷对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 芍药苷

**2.2.5 线性关系的考察** 精密吸取对照品溶液 0.2, 0.6, 1, 1.4, 1.8, 2.2 mL 分别置于 10 mL 量瓶中, 以流动相定容分别进样两次。得到质量浓度分别为 5.848, 17.54, 29.24, 40.94, 52.63, 64.33  $\mu$ g  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> 的溶液。上述色谱条件下, 分别进样 10  $\mu$ L 测定峰面积。以进样量(X) 为横坐标, 峰面积(Y) 为纵坐标, 绘制标准曲线。回归方程为  $Y = 11.345X + 1.2936$ ,  $r^2 = 0.9996$ 。结果表明在(0.058 48~ 0.643 3)  $\mu$ g 范围内, 对照品中芍药苷的含量与峰面积呈良好的线性关系。方程中, X 表示样品中芍药苷的浓度, Y 表示峰面积。

**2.2.6 稳定性试验** 取供试品溶液, 在相同条件下于不同时间内连续进样, 每次 10  $\mu$ L, 测定芍药苷的峰面积。试验结果表明, 12 h 内测定含量基本不变,

相对标准偏差(RSD)为 1.39% (n= 6)。

**2.2.7 精密度试验** 精密吸取供试品溶液 10 μL, 重复进样 6 次, 测定芍药苷对照品峰面积值, RSD 为 0.92% (n= 6)。

**2.2.8 重复性试验** 取同一批号样品(供试药品)6 份, 分别将供试溶液进样 10 μL, 按外标法计算各自含量, 结果表明该法重复性良好, RSD 为 1.16% (n = 6)。

**2.2.9 加样回收试验** 分别精密称取 6 份已知含量的供试品 250 mg, 分别加入芍药苷对照品溶液 294.2 μg·mL<sup>-1</sup> 约 2.6 mL, 超声处理 30 min, 0.1% 磷酸水定容 50 mL 容量瓶中, 过滤取续滤液 10 mL 进样作为加样供试品溶液, 按本文实验方法进行测定, 结果平均回收率为 103.56%, RSD 为 0.70% (n= 6), 结果见表 1。

表 1 芍药苷加样回收试验结果(n= 6)

序 号	样品量 /g	含量 (μg)	实际加入 量(mg)	测得加入 量(mg)	回收率 (%)	平均回 收率(%)	RSD (%)
1	249.20	1 607.98	764.92	794.59	103.88	103.56	0.70
2	249.00	1 595.47	764.92	782.73	102.33		
3	247.13	1 596.99	764.92	790.35	103.33		
4	246.85	1 596.08	764.92	790.37	103.33		
5	247.51	1 605.82	764.92	797.95	104.32		
6	248.08	1 606.48	764.92	796.75	104.16		

**2.2.10 样品含量的测定** 供试品的测定取 3 批供试品, 按上述条件和方法进行测定。样品每克含芍药苷平均为 3.19 mg/g; 每袋(规格: 12 g/袋)含白芍以芍药苷计算, 平均为 38.32 mg/袋。拟定含量限度为每袋含芍药苷不少于 26.26 mg。

精确称取不同批号样品(20080201, 20080202, 20080203)约 0.5 g, 按实验方法操作并测定, 结果见表 2。

表 2 样品中芍药苷的含量测定

批号	取样量(g)	峰面积	含量(μg)	平均含量(mg/袋)
1	0.50	367.45	1 613.73	39.22
		376.66	1 654.33	
2	0.50	355.26	1 560.01	37.51
		356.51	1 565.52	
3	0.50	360.14	1 581.52	38.25
		365.65	1 605.80	

### 3 讨论

黄芪甲苷 TLC 鉴别中, 提取时选择以正丁醇作溶剂, 提取后以 1% 氢氧化钠溶液洗涤, 可有效去除干扰杂质, 消除薄层色谱中拖尾现象。

在含量测定中供试品溶液的制备, 曾采用超声

处理和加热回流提取的方法以及使用 50% 甲醇、乙醇。稀乙醇作为提取溶剂, 通过实验结果表明, 超声处理 30 min 即可将样品中的芍药苷提取完全。

HPLC 法测定芍药苷含量时, 以滤液直接进样峰形不佳, 因此选择将滤液蒸干, 用流动相作溶剂溶解, 峰形效果大为改善。

因胃和冲剂 I 号含多味药材, 其它成分对芍药苷的干扰比较大。按中国药典 2005 版白芍的含量测定, 经过选择流动相比比例及条件摸索, 以甲醇-水溶液(3: 7)为流动相, 在 19 分钟出峰, 峰形不好; 最终选定甲醇: 0.1% 磷酸水= 4.2: 5.8 为流动相分离效果较好。进样时分离测定芍药苷较准确、稳定, 线性关系良好, 重现性好, 保留时间适中。在流动相加入一定的有机酸能够调节 pH 值, 因为芍药苷呈弱酸性, 加入一定的酸或缓冲溶液可减少拖尾, 提高灵敏度。

本实验薄层定性方法操作简便, 色谱斑点清晰, 空白对照无干扰, 易分析; 含量测定方法操作简便, 准确性高, 灵敏度好, 可用于胃和冲剂 I 号中芍药苷的含量测定, 因此可以作为胃和冲剂 I 号的质量控制。

### [参考文献]

- [1] 董秋梅, 米子良, 杜锦辉, 等. 胃和冲剂对胃溃疡模型大鼠的抗溃疡作用及对胃液的影响[J]. 中国中西医结合脾胃杂志, 2000, 8 (3): 157-159.
- [2] 杜锦辉, 常虹, 杨东升. 胃和冲剂对无水乙醇诱发的大鼠胃溃疡模型的影响[J]. 中国中医药科技, 2001, (8): 封底.
- [3] 董秋梅, 米子良, 杜锦辉, 等. 胃和冲剂对乙酸法胃溃疡模型及其对血浆 PGE2 含量的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2002, 9(12): 26-27.
- [4] 麻春杰, 魏玉霞, 米子良. 胃和冲剂治疗慢性胃炎 68 例[J]. 中医研究, 2007, 20(5): 43-44.
- [5] 麻春杰, 李秀霞, 杨巧芳, 等. 胃和冲剂 I 号对大鼠长期毒性实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13 (10): 32-343.
- [6] 米子良, 麻春杰, 尚桂枝, 等. 胃和冲剂治疗活动性消化性溃疡的临床观察[J]. 内蒙古医学院学报, 2002, 24 (1): 43.
- [7] 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. 78, 589, 68-69, 199.
- [8] 张红梅, 余树珍, 陆眷燕. 参芪健胃颗粒的质量标准[J]. 中国药师, 2007, 10(9): 896-898.