

紫参胶囊质量标准研究

刘晓闯^{1*}, 梁文珍¹, 孟 楣¹, 陈锐枫², 袁孝许²

(1. 安徽中医学院第一附属医院, 安徽 合肥 230031; 2. 安徽中医学院, 安徽 合肥 230031)

[摘要] 目的: 建立紫参胶囊的质量标准。方法: 采用薄层扫描法对紫参胶囊中的大黄素进行含量测定, 展开剂: 正己烷-乙酸乙酯-甲酸(30: 10: 0.5), 检测波长 $\lambda_s = 442 \text{ nm}$, 参比波长 $\lambda_R = 610 \text{ nm}$; 同时对制剂中的药材白芍、首乌藤、百合进行了薄层鉴别。结果: 大黄素在 0.04~ 0.20 μg 范围内线性良好, $r = 0.995$, 平均加样回收率为 98.1%, $\text{RSD} = 2.26\%$; 薄层色谱鉴别斑点清晰, 无干扰, 易分辨。结论: 该法准确、简便、重复性好, 可用于紫参胶囊的质量控制。

[关键词] 紫参胶囊; 质量标准; 大黄素; 薄层扫描法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)04-0009-03

Study on the Quality Specification of Zishen Capsules

LIU Xiao-chuang^{1*}, LIANG Wen-zhen¹, MENG Mei¹, CHEN Rui-feng², YUAN Xiao-xu²

(1. The First Affiliated Hospital of Anhui College of TCM, Anhui Hefei 230031, China;

2. Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Anhui Hefei 230031, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the quality specification of Zishen capsules. **Methods:** Emodin in Zishen Capsules was determined by TLC-Scanning. The samples were separated on a silica gel plate with a mixture of n-hexane-ethylacetate-formic acid(30: 10: 0.5) as the developing system. The detection wavelength was 442 nm, the reference wavelength was 610 nm. Radix Paeoniae Alba, Caulis Polygoni Multiflori, Bulbus Lili in the capsule were identified by TLC. **Results:** The calibration curve was linear in the range of 0.04~ 0.20 μg , $r = 0.995$, the average recovery was 98.1%, $\text{RSD} = 2.26\%$; the chromatographic spots were clear, without interference and easy to recognize. **Conclusion:** The method is accurate, simple and reproducible. It could be used for the quality control of Zishen Capsules.

[Key words] Zishen Capsules; quality specification; emodin; TLC-Scanning

紫参胶囊由紫河车、太子参、首乌藤、白芍、百合、牡蛎、龙骨等 10 味中药组成, 具有温肾填精, 双调阴阳的作用, 主要用于治疗绝经期综合征, 闭经, 月经不调。为了有效的控制制剂质量, 本文采用薄层色谱法对方中药材白芍、首乌藤、百合进行了定性鉴别, 并用薄层扫描法对制剂中大黄素的含量进行了测定; 为有效控制该制剂的质量提供了依据。

1 仪器与试药

CAMAG TLC Scanner-3 薄层扫描仪, CAMAG Nanomat₄ 点样仪, CAMAG 双槽展开缸, CAMAG TLC

PLATE HEATER III 加热板, CAMAG 荧光灯, Sartorius BP211D 十万分之一电子天平, SK3200 H 超声仪(上海科导超声仪器有限公司), CANON 数码照相机, HH-S 型水浴锅。

紫参胶囊(安徽中医学院第一附属医院, 批号: 20060617, 20061012, 20061223), 白芍、百合及首乌藤对照药材(中国药品生物制品检定所提供, 批号分别为 120905-200407, 121100-200402, 120939-200404), 大黄素对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 110756-200110), 硅胶 G 薄层板(批号: 20060321 青岛海洋化工总厂), 所用试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 薄层鉴别

2.1.1 白芍^[1] 取紫参胶囊内容物 2 g, 加甲醇 20

[收稿日期] 2007-08-23

[通讯作者] * 刘晓闯, TEL: 13856059645; E-mail: liuxiaochuang@sohu.com

mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液; 另取芍药苷对照品制成每 1 mL 含芍药苷 1 mg 的溶液作为对照品溶液; 按处方比例称取除白芍外的药材, 按照紫参胶囊的

制备工艺和供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液; 吸取供试品溶液和阴性对照溶液各 4 μ L, 芍药苷对照品溶液 1 μ L, 分别点于同一硅胶 G 板上, 以氯仿-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(40: 4: 20: 0.2) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 香草醛硫酸溶液, 加热至斑点显色清晰。结果供试

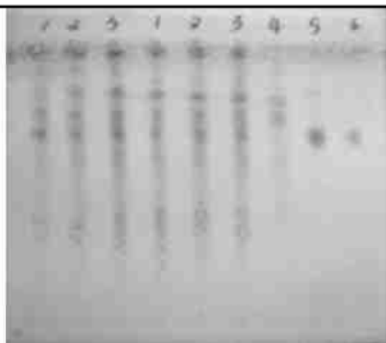


图 1 白芍薄层色谱图

1, 2, 3 为 3 批供试品; 4 为阴性对照;
5, 6 为芍药苷对照品

品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的蓝色斑点, 且阴性对照无干扰, 见图 1。

2.1.2 首乌藤^[2] 取紫参胶囊内容物 4 g, 加乙醇 50 mL, 加热回流 1 h, 滤过, 滤液浓缩至干, 残渣加氯仿 2 mL 使溶解, 作为供试品溶液; 另取首乌藤对照药材 2 g, 按供试品的制备方法制成对照药材溶液 2 mL, 作为对照药材溶液; 按处方比例称取除首乌藤外的药材, 按照紫参胶囊的制备工艺和供试品溶液的制备方法制成阴性

对照溶液; 吸取供试品溶液、阴性对照溶液及对照药材溶液各 2 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以苯-乙醇(4: 1) 为展开剂展开, 取出, 晾干。喷以 10% 磷钼酸乙醇溶液, 加热至斑点显色清晰。结果供试品色

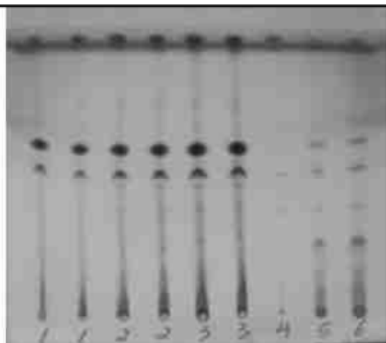


图 2 首乌藤薄层色谱图

1, 2, 3 为 3 批供试品; 4 为阴性对照;
5, 6 为首乌藤对照药材

谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 阴性对照无干扰, 见图 2。

2.1.3 百合^[2] 取紫参胶囊内容物 3 g, 加甲醇 10 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液浓缩至干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液; 另取百合对照药材 1 g 按供试品的制备方法制成对照药材溶液; 按处方比例称取除百合外的药材, 按照紫参胶囊的制

备工艺和供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液; 吸取供试品溶液及阴性对照溶液各 2 μ L, 对照药材溶液 4 μ L, 分别点与同一硅胶 G 板上, 以石油醚

(60~ 90 $^{\circ}$ C)-乙酸乙酯-甲酸(15: 5: 1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 磷钼酸乙醇溶液, 加热至斑点显色清晰。结果供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的蓝色斑点, 阴性对照无干扰。见图 3。

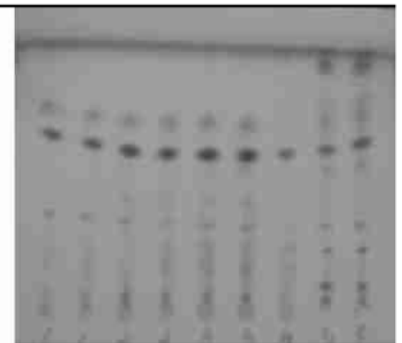


图 3 百合薄层色谱图

1, 2, 3 为 3 批供试品; 4 为阴性对照;
5, 6 为百合对照药材

2.2 大黄素的含量测定

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取大黄素对照品加甲醇制成每 1 mL 含 0.08 mg 的溶液, 作为大黄素对照品溶液。

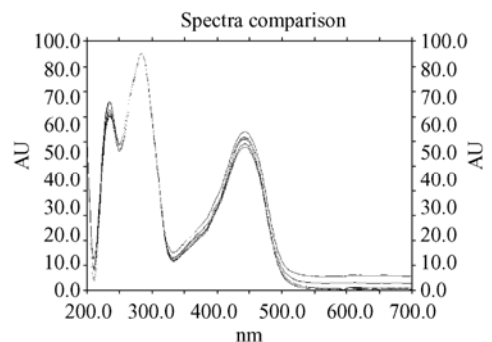


图 4 光谱扫描

2.2.2 供试品溶液的制备^[1] 精密称取紫参胶囊内容物 1.0 g, 置圆底烧瓶中, 精密加甲醇 25 mL, 精密称重, 加热回流 1 h, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液 10 mL 蒸干, 残渣加 8% 盐酸溶液 20 mL, 超声处理 2 min, 再加三氯甲烷 10 mL, 加热回流 1 h, 放冷, 置分液漏斗中, 用少量三氯甲烷洗涤容器, 并入分液漏斗中, 分取三氯甲烷层, 酸液再用三氯甲烷提取 3 次, 每次 10 mL, 合并三氯甲烷液, 浓缩蒸干, 残渣加甲醇使溶解, 转移至 2 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。

2.2.3 阴性对照液的制备 根据处方组成, 按紫参胶囊制备工艺制成缺首乌藤的阴性制剂, 再按 2.2.2 制备方法制得阴性对照液。

2.2.4 色谱条件 吸附剂: 硅胶 G 板; 展开剂: 正己烷-乙酸乙酯-甲酸(30: 10: 0.5)^[3], 预饱和 30 min, 上行展开, 365 nm 下定位。

2.2.5 扫描条件 在(200~ 700) nm 波长范围内对

大黄素斑点进行光谱扫描, 确定检测波长 $\lambda = 442$ nm, 参比波长 $\lambda_r = 610$ nm, 见图 4; 扫描光狭缝大小 (6.00 mm × 0.45 mm, Micro), 扫描速度为 20 mm/s, 扫描分辨率为 100 $\mu\text{m}/\text{step}$; 扫描方式: 线性扫描。

2.2.6 阴性对照试验 分别吸取阴性对照液、供试品溶液和对照品溶液各 2 μL , 点于同一硅胶 G 薄层板上, 按 2.2.4 中色谱条件操作后, 按 2.2.5 中确定的扫描条件进行扫描, 结果供试品色谱图中在与大黄素色谱相应的位置上, 出现相应的吸收峰, 而空白对照在与大黄素相应的位置上, 无相应的吸收峰。见图 5。

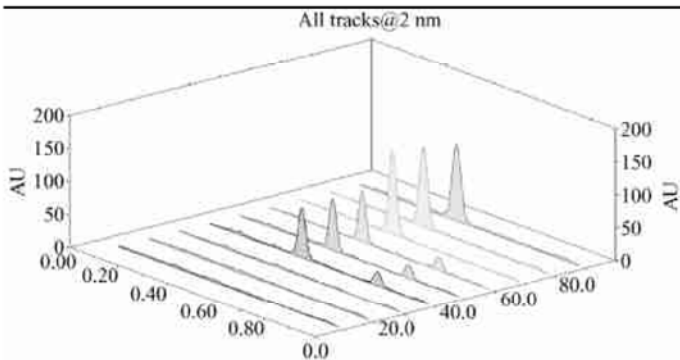


图 5 空白对照液、紫参胶囊、大黄素对照色谱扫描图
(左→右各 3 个轨道)

2.2.7 线性关系考察 精密吸取大黄素对照品溶液 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 按 2.2.4 色谱条件展开后进行扫描, 以对照品点样量 (μg) 为横坐标 X, 吸收峰面积积分为纵坐标 Y, 绘制标准曲线, 实验数据经线性回归, 得回归方程 $Y = 30.23X + 1103.85$ ($r = 0.995$)。结果表明: 大黄素在 (0.040~ 0.200) μg 范围内, 峰面积积分值与对照品量呈良好的线性关系。

2.2.8 稳定性试验 吸取供试品溶液 2 μL , 点于同一硅胶 G 薄层板上, 依法展开后进行扫描: 在室温下放置, 每隔 1 h 测定一次峰面积。结果斑点在至少 6 h 内稳定, $\text{RSD} = 0.32\%$ ($n = 7$)。

2.2.9 精密度考察 在同一硅胶 G 薄层板上点 6 个相同量的对照品溶液 2 μL , 依法展开, 取出, 晾干, 定位, 扫描测定峰面积值, 结果: 平均峰面积 = 2361.38, $\text{RSD} = 1.74\%$ ($n = 6$), 表明精密度良好。

2.2.10 重复性试验 取同一批号样品 6 份, 按 2.2.2 方法分别制成供试品溶液, 分别吸取对照品溶液 0.5, 1.5 μL 及供试品 2.0 μL , 按 2.2.4 色谱条件展开, 测定大黄素的含量, 结果: 平均含量为 0.120 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $\text{RSD} = 3.07\%$ ($n = 6$)。

2.2.11 加样回收率试验 取已知大黄素含量 0.120 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 的样品 5 份, 每份先称取约 1 g, 再精密称定, 分别精密加入大黄素对照品溶液 (0.08 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 1.5 mL, 按 2.2.2 方法制成供试品溶液, 测定其大黄素的含量, 计算回收率 (见表 1), 结果: 平均回收率 = 98.1%, $\text{RSD} = 2.26\%$ ($n = 5$)。

表 1 大黄素加样回收率测定结果

编号	样品中量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.110 1	0.120 0	0.225 8	96.4	98.1	2.26
2	0.099 7	0.120 0	0.218 8	99.3		
3	0.123 8	0.120 0	0.237 9	95.1		
4	0.113 0	0.120 0	0.232 1	99.3		
5	0.091 9	0.120 0	0.212 2	100.3		

2.2.12 样品含量测定 取 3 个批号的紫参胶囊, 按 2.2.2 方法分别制成供试品试液, 吸取大黄素对照品溶液 0.5, 1.5 μL , 3 批供试品溶液各 2.0 μL , 点于同一硅胶 G 板上 (20 cm × 10 cm), 依法展开, 测定 3 批紫参胶囊中大黄素的含量, 结果分别为 0.120, 0.123, 0.126 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)。

3 讨论

紫参胶囊含有多种中药材, 其中主药首乌藤中含有活性成分大黄素, 结合工艺及功效, 确定大黄素为本品含量控制的指标成份; 参照《中国药典》2005 版一部大黄含量测定项下供试品溶液制备方法, 通过两次回流, 盐酸超声处理, 三氯甲烷萃取等步骤, 用薄层扫描法测定大黄素的含量, 干扰少, 实验效果好, 且有良好的回收率。

在进行光谱扫描时我们发现大黄素在近紫外区 287 nm 和可见光区的 442 nm 处有两个最大吸收峰, 而在 610 nm 处几乎无吸收, 因为 610 nm 处于可见光区, 所以选择同一光区的 442 nm 和 610 nm 作为检测波长和参比波长, 采用双波长扫描法进行试验。

文献报道测定大黄素的含量采用高效液相色谱法 (HPLC) 多于薄层扫描法 (TLCS), 而本实验之所以采用的是薄层扫描法 (TLCS), 是因为大黄素不需要显色, 自身性质比较稳定; 且薄层扫描法 (TLCS) 具有测定周期短、同板可测多批样品、节约成本, 环境污染相对较小等优点; 适用于控制医院制剂质量。

[参考文献]

- [1] 苗明三, 李振国. 现代实用中药质量标准控制技术 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000. 339, 87.
- [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. 187, 88.
- [3] 徐先祥, 夏伦祝. 薄层扫描法测定肝豆灵片中大黄素含量 [J]. 安徽医药, 2005, 9(1): 37.