

开胸顺气丸(大蜜丸)质量标准研究

徐韧柳, 韩桂茹

(河北省药品检验所, 河北 石家庄 050011)

摘要:目的: 建立开胸顺气丸(大蜜丸)的质量标准。方法: 采用 TLC 法对方中牵牛子、厚朴、木香和陈皮进行了定性鉴别; 应用 HPLC 法对方中厚朴的有效成分厚朴酚与和厚朴酚进行了含量测定。结果: 本品定性鉴别薄层色谱特征明显, 专属性强; 厚朴酚含量测定线性范围为 0.082~16.4 μg ($r=0.9996, n=9$), 平均回收率为 97.12% ($\text{RSD}=0.78\%, n=5$); 和厚朴酚线性范围为 0.046~9.20 μg ($r=0.9998, n=9$), 平均回收率为 98.48% ($\text{RSD}=1.86\%, n=5$)。结论: 鉴别和含量测定方法准确可行, 重复性好, 作为药品标准可有效地控制开胸顺气丸(大蜜丸)的质量。

关键词: 开胸顺气丸(大蜜丸); TLC; HPLC; 厚朴酚; 和厚朴酚

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2005)02-0024-04

开胸顺气丸(大蜜丸), 由槟榔、牵牛子、陈皮、木香和厚朴等 8 味中药组成, 具有消积化滞, 行气止痛之功效。用于饮食内停, 气郁不舒导致的胸肋胀满, 胃脘疼痛。原标准^[1]中无任何定性定量检测方法, 为了提高标准检测水平, 采用 TLC 法对开胸顺气丸(大蜜丸)方中牵牛子、陈皮、木香和厚朴进行了定性鉴别; 应用 HPLC 法对方中厚朴的有效成分厚朴酚与和厚朴酚进行了含量测定。

1 实验材料与仪器

1.1 材料 厚朴酚、和厚朴酚、橙皮苷对照品及所用对照药材购自中国药品生物制品检定所; 开胸顺气丸(大蜜丸)为石家庄乐仁堂制药有限责任公司、河北药都制药集团有限责任公司、河北金牛制药有限公司生产。制备阴性对照的各味药材购自石家庄乐仁堂药店, 并由本所中药室孙宝惠主任药师鉴定。薄层层析硅胶 G 和硅胶 GF₂₅₄ 为青岛海洋化工有限公司制造(化学纯)。乙腈为色谱纯, 其他试剂和试药均为分析纯。

1.2 仪器 高效液相色谱仪: 日本岛津 LC-10ADVP 泵; SPD-M10ADVP 二极管阵列检测器; CLASS-VP/LC 色谱工作站。美国 7725i 手动进样器。

2 实验方法与结果

2.1 薄层鉴别

2.1.1 牵牛子的鉴别 取本品 9g, 剪碎, 加乙醇 40mL, 水浴上加热回流 1h, 滤过, 滤液中加入盐酸

3mL, 加热回流 1h, 滤过, 滤液中加水 40mL, 置水浴上蒸至无醇味, 水溶液置分液漏斗中, 加苯 30mL, 振摇提取, 静置, 分取苯层, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加无水乙醇 1mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取牵牛子对照药材 1g, 同法制成对照药材溶液。吸取上述两种溶液各 5~10 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, 以环己烷-醋酸乙酯(9:1)为展开剂, 展开 12 厘米以上, 取出, 晾干, 喷以 5% 香草醛硫酸溶液, 在 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同的一个黄色斑点。见图 1。

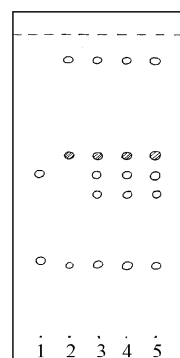


图 1 开胸顺气丸中牵牛子 TLC 图谱

1. 缺牵牛子样品; 2. 牵牛子; 3. 样品; 4. 样品; 5. 样品

2.1.2 厚朴的鉴别 取本品 18g, 加硅藻土 10g, 研匀, 加氯仿 80mL, 水浴上加热回流 30min, 滤过, 取半量滤液(另半量备用)用 2% 氢氧化钠溶液振摇提取 3 次, 每次 20mL, 合并碱液, 用盐酸调节 pH 值至 1~2, 用氯仿振摇提取 3 次, 每次 20mL, 合并氯仿液, 用 20mL 水洗涤一次, 分取氯仿液, 置水浴上蒸干, 残渣加醋酸乙酯 1mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取厚

朴酚与和厚朴酚对照品,加醋酸乙酯制成每 1mL 各含 1mg 的混合溶液,作为对照品溶液。吸取上述两种溶液各 3~ 6 μ L,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上,以氯仿-苯-醋酸乙酯(5: 4: 1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。见图 2。

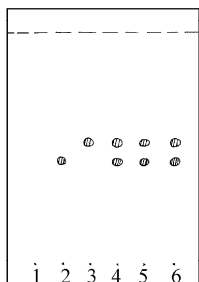


图 2 开胸顺气丸中厚朴 TLC 图谱

1. 缺厚朴样品; 2. 厚朴酚; 3. 和厚朴酚; 4. 样品; 5. 样品; 6. 样品

2.1.3 木香的鉴别 取鉴别 2.1.2 项下备用的氯仿回流提取溶液,水浴上蒸干,残渣加醋酸乙酯 1mL 使溶解,作为供试品溶液。另取木香对照药材 1g,加氯仿 15mL,水浴上加热回流 30min,滤过,滤液蒸干,残渣加醋酸乙酯 1mL 使溶解,作为对照药材溶液。吸取上述两种溶液各 1~ 3 μ L,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,以环己烷-丙酮(10: 3)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 香草醛硫酸溶液。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。见图 3。

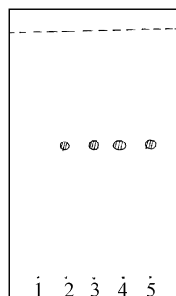


图 3 开胸顺气丸中木香 TLC 图谱

1. 缺木香样品; 2. 木香; 3. 样品; 4. 样品; 5. 样品

2.1.4 陈皮的鉴别 取本品 9g,剪碎,加甲醇 40mL,超声处理 20min,滤过,滤液蒸干,残渣用水 20mL 溶解,用盐酸调节 pH 值至 1~ 2,用醋酸乙酯振摇提取 2 次,每次 20mL,合并醋酸乙酯液,蒸干,残渣加甲醇 1mL 使溶解,作为供试品溶液。另取橙皮苷对照品,加甲醇制成饱和溶液,作为对照品溶液。吸取上述两种溶液各 4~ 8 μ L,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,以氯仿-甲醇-水(28: 10: 1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以

1% 三氯化铝乙醇溶液,置紫外光灯(365nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。见图 4。

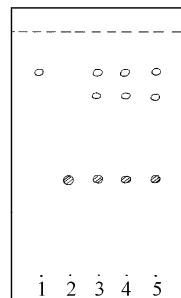


图 4 开胸顺气丸中橙皮苷 TLC 图谱

1. 缺陈皮样品; 2. 橙皮苷; 3. 样品; 4. 样品; 5. 样品

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱: 十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 填充粒度为 5 μ m, 岛津 shim pack VP-ODS 柱, 规格 4.6mm \times 150mm。柱温: 室温。流速: 1.0mL/min。流动相: 乙腈-水-冰醋酸(60: 38: 2)。检测波长 294nm。理论板数按厚朴酚峰计算不低于 3000。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取厚朴酚 10mg, 置 25mL 量瓶中, 精密称取和厚朴酚对照品 10mg 置 50mL 量瓶中, 分别用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀; 分别精密量取厚朴酚及和厚朴酚溶液各 5mL, 置同一 50mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得(每 1mL 含厚朴酚 40 μ g、和厚朴酚 20 μ g)。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品适量, 剪碎, 取 5g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50mL, 称定重量, 浸泡过夜, 超声处理 40min, 放冷, 称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 弃去初滤液, 精密量取续滤液 10mL, 置蒸发皿中, 水浴上蒸干, 残渣用 20mL 盐酸溶液(1 \rightarrow 10)分次搅拌溶解, 转移到分液漏斗中, 用氯仿振摇提取 3 次, 每次 15mL, 合并氯仿液, 用水 20mL 洗涤 1 次, 水层再用 10mL 氯仿提取 1 次, 与上述氯仿液合并, 置水浴上蒸干, 残渣用 90% 甲醇溶解, 定量转移至 10mL 量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.4 阴性对照试验 按照本品的处方、制法制备缺少厚朴的模拟样品, 按供试品溶液制备方法制成厚朴阴性对照溶液, 将厚朴酚与和厚朴酚对照品溶液、供试品溶液和厚朴阴性对照溶液, 分别注入液相色谱仪中, 进行测定, 得到色谱扫描图, 见图 5。由图显示供试品、厚朴酚与和厚朴酚在相应位置均有相似的峰, 而阴性对照则无, 说明其它药味不干扰厚朴酚与和厚朴酚的检测。

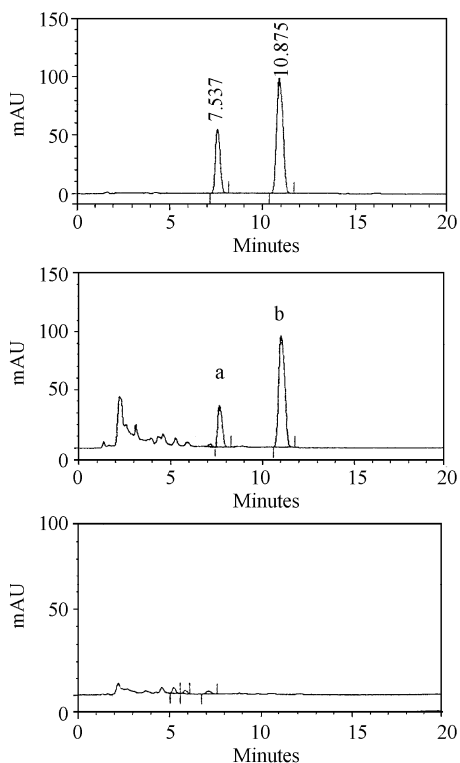


图 5 HPLC 色谱扫描图

1. 厚朴酚与和厚朴酚对照品 a. 和厚朴酚; b. 厚朴酚;
2. 开胸顺气丸样品; 3. 缺厚朴

2.2.5 线性关系考察 分别配制厚朴酚 0.8200mg/mL 和厚朴酚 0.4600mg/mL 的溶液, 各取一定量置同一量瓶中稀释使厚朴酚的浓度分别为 0.0041、0.0082、0.0205、0.0410、0.0820、0.1640、0.2460、0.3280mg/mL, 和厚朴酚浓度分别为 0.0023、0.0046、0.0115、0.0230、0.0460、0.0920、0.1380、0.1840mg/mL 的混合溶液, 取上述溶液各 20μL 进样, 按拟定色谱条件测定, 记录峰面积与进样量, 以进样的对照品溶液浓度为横坐标, 以峰面积积分为纵坐标, 绘制标准曲线, 计算回归方程: 厚朴酚 $Y = 34110766X + 191446$, $r = 0.9996$; 和厚朴酚 $Y = 40575403X + 49638$, $r = 0.9999$ 。表明进样量厚朴酚在 0.082~16.4μg 范围内, 和厚朴酚 0.046~9.20μg 范围内分别呈线性关系。

2.2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液, 分别在 0、2、4、6、8、21、25、30h 进样测定, 供试品厚朴酚峰面积的 RSD 为 1.39%, 和厚朴酚峰面积的 RSD 为 1.54%, 说明厚朴酚与和厚朴酚至少在 30h 内稳定。

2.2.7 精密度试验 精密吸取某一供试品溶液 20μL, 重复进样 5 次, 测定峰面积, 结果供试品厚朴酚峰面积的 RSD 为 0.49%, 和厚朴酚峰面积的 RSD 为 0.87%。

2.2.8 重复性试验 对同一批号的样品按前述含量测定方法进行五次平行提取测定, 计算含量, 结果

供试品厚朴酚的平均含量为 0.6597mg/g, RSD 为 2.73%; 供试品和厚朴酚的平均含量为 0.1479mg/g, RSD 为 1.91%。

2.2.9 回收率试验 精密称取已知含量的样品 5 份, 分别加入一定量的厚朴酚与和厚朴酚对照品, 按所述方法进行测定, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 开胸顺气丸(大蜜丸)中厚朴酚与和厚朴酚的加样回收试验结果

成分	样品中含 对照品 的量(mg)	添加对 照品的 量(mg)	测出对 照品的 总量(mg)	所加对 照品的测 出量(mg)	回收率 (%)	平均回 收率(%)	RSD (%)
	1.6706	1.7220	3.4137	1.7431	101.23		
厚 朴 酚	1.6035	1.7220	3.2905	1.6870	97.97		
	1.6617	1.7220	3.3506	1.6889	98.08	98.48	1.86
	1.6518	1.7220	3.3083	1.6565	96.20		
	1.3725	1.7220	3.0763	1.7038	98.94		
和 厚 朴 酚	0.3745	0.4600	0.8263	0.4518	98.22		
	0.3595	0.4600	0.8041	0.4446	96.22		
	0.3725	0.4600	0.8160	0.4435	96.41	97.12	0.78
	0.3703	0.4600	0.8154	0.4451	96.76		
	0.3077	0.4600	0.7564	0.4487	97.54		

2.2.10 样品测定结果 按前述方法制备对照品溶液与供试品溶液, 分别精密吸取两种溶液各 20μL, 注入液相色谱仪, 测定并计算含量, 样品测定结果见表 2。

表 2 开胸顺气丸(大蜜丸)中厚朴酚与和厚朴酚的含量测定结果

生产厂家	样品批号	厚朴酚含量 (mg/g)	和厚朴酚含量 (mg/g)	总含量 (mg/g)
石家庄乐仁堂制药 有限责任公司	011118	0.66	0.15	0.81
河北药都制药集团 有限责任公司	020615	0.75	0.45	1.20
河北金牛制药有限 公司	20011103	0.55	0.05	0.60

3 讨论

3.1 薄层鉴别 牵牛子和厚朴的薄层鉴别曾参照开胸顺气丸(水丸)^[2]的方法进行试验, 由于本品含有大量蜂蜜, 干扰特征成分的检出, 不适用。在试验基础上分别确定供试品均经有机溶剂提取后再做进一步处理, 所得薄层色谱斑点圆整清晰。牵牛子水解后用苯或氯仿萃取均可以, 该薄层展开距离要足够长, 否则显色后特征成分黄色斑点下方的蓝色斑点有可能与之重叠, 影响结果判断。厚朴曾采用甲醇提取, 浓缩至近干, 酸水溶解, 氯仿提取制备供试品溶液, 由于厚朴阴性对照有干扰未被采用。

木香的薄层鉴别采用乙醚与氯仿分别水浴上加

热回流或超声处理提取作为供试品溶液,效果相同。为能借用鉴别 2.1.3 的提取液,采用氯仿提取供试品。

橙皮苷为陈皮含有的主要有效成分,易溶于甲醇,采用甲醇提取并进一步进行提纯作为供试品溶液,排除了杂质干扰。分别以氯仿-甲醇-水(28:10:1)、氯仿-甲醇-冰醋酸-丁酮(13:4:1:1)、醋酸乙酯-甲醇-水(6:1:3)上层溶液为展开剂,以第一个展开剂薄层色谱结果最佳被采用。

上述薄层鉴别均进行阴性对照试验,方法专属,未见干扰。

3.2 含量测定用供试品溶液制备条件的选择 以甲醇与乙醇分别为提取溶剂,对比了超声处理提取和回流提取,并对提取时间进行了考察,根据测定结果选定甲醇超声处理提取^[3],提取时间为 40min。定量量取样品的甲醇提取液,蒸干后用酸水溶解,加入氯仿萃取,经考察确定了氯仿萃取次数,样品的氯仿

提取液蒸干,残渣用适宜的溶剂溶解,作为供试品溶液。残渣易溶于甲醇,但是流动相极性较甲醇大,供试品溶液中一些极性较小的成分遇流动相出现沉淀(混浊),进样后会造造成对色谱柱的污染。用 90% 的甲醇或流动相溶解残渣,可避免上述现象,由于含水甲醇用普通有机系微孔滤膜滤过效果好被采用。

以上定性定量方法准确可靠,重复性好,可用于开胸顺气丸(大蜜丸)的质量控制。

参考文献:

- [1] 河北省卫生厅. 河北省药品标准[S]. 1991. 49.
- [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, 2000. 381, 204-205.
- [3] 胡旭佳, 郭毅心, 何红. HPLC 测定顺气胃康胶囊和厚朴酚与厚朴酚的含量[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(6): 467-469.