

济川胶囊质量标准研究

刘霞,倪艳,王瑞明,苏强,李先荣
(山西省中医药研究院,山西太原 030012)

摘要:目的:制定质量标准。方法:用薄层色谱法鉴别肉苁蓉、当归、枳壳,用薄层扫描法测定齐墩果酸含量。结果:定性定量方法简便,灵敏,准确,专属性强。结论:建立的方法可控制样品质量。

关键词:济川胶囊;质量标准;薄层扫描;齐墩果酸

中图分类号:R284.1 文献标识码:B 文章编号:1005-9903(2003)03-0006-03

Studies on Quality Standards of Jichuan Granule

LIU Xia, NI Yan, WANG Rui-ming, SHU qiang, LI Xian-rong

(Shanxi Academy Of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030012 China)

Abstract: Object To establish the quality standards for ichuanjiaonong. Methods Herba Cistanches Radix Angelicae Sinensis Fructus Aurantii in Jichuanjiaonong were identified by TLC. Oleanolic acid in Rechmanuia glutinosa Libosh was determined by TLC-Scanning. Result These methods were simple and accurate. Conclusion The methods can be used for the quality control of Jichuanjiaonong.

Key words: Jichuan Granule; Qualitystandard; TLC-Scanning Oleanolic acid

济川胶囊系由肉苁蓉、当归、牛膝、枳壳等多味中药研制而成。具有温肾润肠通便之功效。主治功能性便秘属肾阳虚证者,大便秘结不通或排便困难,症见腰膝酸软,神寒肢冷,小便清长。为了控制其内在质量,对方中主要药味肉苁蓉、当归、枳壳等进行薄层鉴别,对牛膝中的齐墩果酸采用薄层扫描法进行了含量测定,获得了满意的结果。

1 仪器与试剂

CS-9301 薄层扫描仪(日本岛津公司); 939 型薄层制板器(重庆南安贝尔德仪器技术厂); 分析天平(德国赛多利斯 BP211D)。硅胶 G(青岛海洋化工厂); 化学试剂均为分析纯。齐墩果酸对照品购自中国药品生物制品检定所(定性用对照品), 经过用 95% 乙醇反复重结晶纯化, 含量达 98.0% 以上, 符合含测用对照品要求。济川胶囊由本院制剂中心提供。

2 薄层鉴别

2.1 肉苁蓉 取本品内容物 5g, 加 70% 乙醇 30ml, 超声处理 30min, 离心, 取上清液, 水浴上挥至无醇味, 加水约 50ml 使溶解, 转移至分液漏斗中, 用醋酸

乙酯振摇提取 3 次, 每次 20ml(备用), 再用正丁醇振摇提取 3 次, 每次 20ml, 合并正丁醇液, 置水浴上蒸干, 残渣加甲醇 5ml 使溶解, 加 2g 中性 Al_2O_3 拌匀, 干燥。加在中性 Al_2O_3 (内径 1.5cm, 4g) 上, 再用甲醇 15ml 洗脱, 收集洗脱液, 挥干甲醇, 残渣加 1ml 甲醇使溶解, 作为供试品溶液。另取肉苁蓉对照药材 3g, 同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VB) 试验, 吸取上述两种溶液各 6 μ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-甲醇(17:3) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 香草醛硫酸溶液, 热风吹至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。同法制得的阴性对照液色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 无斑点干扰。

2.2 当归 取肉苁蓉项下的醋酸乙酯层, 挥干, 残渣加 1ml 醋酸乙酯使溶解, 作为供试品溶液。另取当归对照药材 0.5g, 同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VB) 试验, 吸取上述两种溶液各 5 μ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正己烷-醋酸乙酯(9:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365nm) 下检视。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

荧光斑点。同法制得的阴性对照液色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,无斑点干扰。

2.3 枳壳 取本品内容物 3g,加硅藻土 1.5g,研匀,加甲醇 25ml,超声处理 15min,滤过,滤液浓缩至 2ml,作为供试品溶液。另取枳壳对照药材 0.5g,同法制成对照药材溶液。再取橙皮甙对照品,加甲醇制成饱和溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VIB)试验,吸取上述三种溶液各 5 μ l,分别点于同一用 0.5% 氢氧化钠溶液制备的硅胶 G 薄层板上,以醋酸乙酯-甲醇-水(100:17:13)为展开剂,展开 3cm,取出,晾干;再以甲苯-醋酸乙酯-甲酸-水(20:10:1:1)的上层液为展开剂,展距 8cm,取出,晾干,喷以 3% 三氯化铝乙醇溶液后,热风吹干,置紫外光灯(365nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品及对照品色谱相应的位置上显一相同颜色的荧光斑点;在与对照药材色谱相应的位置上显相同颜色的荧光斑点。同法制得的阴性对照液色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,无斑点干扰。

3 含量测定

3.1 层析条件 薄层板:0.5% 羧甲基纤维素钠溶液为粘合剂的硅胶 H 板,105 $^{\circ}$ C 活化 0.5h。展开剂:甲苯-乙醚-甲醇(10:2:1)。展距:约 14cm。显色剂:10% 硫酸乙醇。显色温度:105 $^{\circ}$ C 烘约 2~5min,立即在薄层板上覆盖同样大小的玻璃板,周围用胶布固定。

3.2 扫描条件 最大吸收波长:供试品的最大吸收波长为 530nm,与对照品及文献^[1]报道一致。

扫描方式:反射式单波长锯齿扫描,检测波长 $\lambda = 530\text{nm}$,狭缝 1.5mm \times 1.5mm, SX=3。

3.3 对照品溶液的制备 取齐墩果酸对照品,加甲醇制成每 1ml 含 0.5mg 的溶液,作为对照品溶液。

3.4 供试品溶液的制备 取本品 30 粒,倾出内容物,混匀,取 5g,精密称定,置锥形瓶中,加 2mol/L 盐酸溶液 100ml,置沸水浴中加热回流 4h,趁热滤过,将锥形瓶中药渣用水全部转移,并反复洗涤滤渣至滤液无色,弃去滤液,滤渣连同滤纸干燥(70 $^{\circ}$ C),再将滤渣连同滤纸(装入滤纸筒)置索氏提取器中,用甲醇提取至提取液无色,蒸干,残渣用甲醇溶解,移至 10ml 量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

3.5 阴性对照溶液的制备 取 5g 去牛膝的阴性样品,精密称定,照供试品溶液的制备项下方法制备阴

性样品溶液,作为阴性对照溶液。

3.6 空白试验 取阴性样品溶液、供试品溶液各 6 μ l,对照品溶液 4 μ l,分别点于同一硅胶 H 薄层板上,照上述条件层析,展开,显色,测定。结果阴性无干扰。

3.7 标准曲线的制备 精密吸取对照品溶液 1 μ l、2 μ l、3 μ l、4 μ l、5 μ l(浓度为 1.2mg/ml),分别点于同一薄层板上,照上述条件层析,展开,显色,测定。以点样量为横座标,以扫描积分值为纵座标,得一工作曲线。 $Y = 22615X - 2380.2$,相关系数 $r = 0.999$,线性范围为 1.2~6.0 μ g。

3.8 稳定性试验 在薄层板上点 4 μ l 对照品,展开显色后覆盖上玻璃板,每隔 0.5h 扫描一次,2.5h 内测定 5 次, RSD 为 1.40%。因此薄层显色后,2.5h 内测定结果较稳定。

3.9 精密度试验 取同一样品分别点于 5 块薄层板上,以上述条件进行测定, RSD 为 4.75%,在同一块薄层板上用相同量分别点五个点,进行测定, RSD 为 2.91%。

3.10 重现性试验 取同一批样品,进行五次平行试验,结果 RSD 为 2.4%,表明该方法重现性好。

3.11 三批样品测定数据 取三批样品,同上述条件进行测定,供试品 6 μ l,对照品 4 μ l、6 μ l,测定结果如下:

表 1 济川胶囊中齐墩果酸测定结果

批号	取样量(g)	含量(mg/粒)			平均值(%)	RSD(%)
970210	4.97130	0.34	0.34	0.34	0.34	0
970215	4.96630	0.28	0.30	0.29	0.29	3.4
970222	5.00100	0.29	0.30	0.29	0.29	2.0

表 2 加样回收率测定结果

编号	样品中的齐墩果酸量(mg)	添加的齐墩果酸量(mg)	测出齐墩果酸量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)
1	2.354	0.563	2.912	99.1	
2	2.345	0.563	2.910	100.4	100.4
3	2.573	0.563	3.131	99.1	
4	2.452	0.563	2.978	98.2	
5	2.354	0.563	2.948	105.6	

3.12 加样回收率试验 精密称取已知含量的供试品,准确加入齐墩果酸 1ml 0.563mg/ml 对照品溶液,照供试品溶液的制备方法,以上述条件进行测定,计算回收率,平均值为 100.4%, RSD 为 2.92%。

4 讨论

肉苁蓉主要化学成分除了肉苁蓉多糖及 D-甘露醇外,尚含有肉苁蓉甙 A、B、C 等。通过薄层条件的反复摸索,建立了本文以肉苁蓉的苷类成分为主的鉴别方法。该方法斑点清晰,重现性好,阴性不干扰。该方法的建立,为以肉苁蓉药材为对照、制备工艺以水煎为主的供试品的鉴别,提供了参考方法。

牛膝的有效成分主要是三萜皂苷,该成分易溶于水,水解后产生齐墩果酸,选择该成分进行含量测定,能够比较全面地监控以水煎为主的制备工艺,对保证本品质量有重要意义。三萜皂苷在酸性条件下,即可水解产生齐墩果酸。水解时的酸浓度,经过比较研究(1mol、2mol、3mol),表明 2mol 的盐酸水解较彻底(含量不再增加)与文献^[2]报道相符。水解液趁热过滤后,经检查滤液中不含齐墩果酸。为了消除背景干扰,滤渣连同滤纸需用大量的水反复洗

涤至滤液无色,然后在 70℃干燥,再装入滤纸筒置索氏提取器内用甲醇提取,经与氯仿比较,甲醇提取率高且提取至无色所需时间短,背景也没有干扰。关于牛膝中齐墩果酸的提取方法,文献报道较多,但提取方法大多较繁琐,不易掌握,且用于本制品,薄层色谱背景干扰严重,通过多次实验摸索,确定了本提取方法。该方法简便,易掌握,重现性亦较好,回收率高。

参考文献:

- [1] 吴居,王延明,陈鸿,等. 中草药中齐墩果酸的含量测定[J]. 中草药, 1992, 23(9): 467-468.
- [2] 南方协作组,常用中药材品种整理及质量研究[M]. 第一册,福州:福建科技出版社, 1994. 253-262.