

通脉颗粒质量标准的研究

刁 东阳¹, 邵爱馨², 任天池²

(1 重庆市万县中医药学校, 404000; 2 北京中医药大学, 100029)

摘要: 采用薄层层析对方中赤芍、延胡索, 川芎进行定性鉴别; 采用薄层扫描法对样品中黄芪进行含量测定。此法可行, 结果可靠, 可作为该制剂的质量指标。

关键词: 通脉颗粒; 黄芪甲苷; 薄层扫描定量

中图分类号: R284.1 文献标识码: D 文章编号: 1005-9903(2000)06-0014-03

通脉颗粒是由黄芪、赤芍、延胡索、川芎等 9 味中药材组方。用于治疗动脉硬化性闭塞症, 血栓闭塞性脉管炎等疾病^[1]。为了控制该制剂的质量, 采用薄层层析法对赤芍、延胡索、川芎进行定性鉴别, 采用薄层扫描法对黄芪进行含量测定。

1 仪器、药材和试剂

1.1 仪器 CS-9000 薄层扫描仪(带 FDU-3 电脑显示及 DR-3 数据处理); 定量毛细管(Drammod-Sciencifie co U. S. A); CX-250 型超声波清洗机(北京医疗设备厂)。

1.2 对照品与对照药材 黄芪甲苷、芍药苷、延胡索乙素, 川芎对照药材(中国药品生物制品检定所)。

1.3 试剂与试药 硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工厂), 其它试剂均为分析纯。

2 定性鉴别

2.1 赤芍的鉴别^[2,3] 取本品细粉 3g, 加乙醇 20ml, 超声 30min, 滤过, 滤液蒸干。残渣加少量 50% 乙醇溶解, 置已处理好的聚酰胺柱(1.0cm × 10cm, 80 目聚酰胺粉)内, 用 50% 乙醇洗脱 50ml, 洗脱液蒸干, 残渣加 15ml 水溶解, 滤过, 滤液用水饱和正丁醇萃取 3 次(10ml × 3), 正丁醇液蒸干, 残渣加乙醇定容 2ml, 作为供试品溶液。另取不含赤芍药材的群药, 同法制成阴性对照液。再取赤芍

对照药材 0.5g, 加乙醇 10ml, 振摇 5min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加乙醇 2ml, 作为阳性对照液, 再取芍药苷对照品配成 1ml 含 2mg 的乙醇液, 作为对照品溶液。吸取上述四种溶液各 2 μ l, 分别点于同一块硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-醋酸乙酯-甲醇-甲酸(40: 5: 10: 0.2) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 用 10% 硫酸乙醇溶液浸板, 挥干溶剂, 100 $^{\circ}$ C 烘约 5min 至斑点清晰, 供试品色谱中, 在与对照品, 对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 阴性无干扰。见图 1。

2.2 延胡索的鉴别^[4] 取本品细粉 3g, 以适量浓氨试液湿润至 pH10~ 11, 加氯仿 20 μ l, 超声 30min, 滤过, 滤液用 10% 醋酸萃取 4 次(20ml × 2, 10ml × 2), 合并氯仿液, 回收至干, 残渣用 0.5ml 甲醇溶解, 作为供试品溶液。另取不含延胡索药材的群药及延胡索对照药材 1g, 同法制成阴性对照液及对照药材溶液。再取延胡索乙素对照品加甲醇制成每 1ml 含 1mg 的甲醇溶液, 作为对照品溶液。吸取上述四种溶液各 2 μ l, 分别点于同一块硅胶 G 薄层板上, 以环己烷-氯仿-甲醇-二乙胺(10: 6: 0.5: 0.1) 为展开剂, 置预饱和的层析

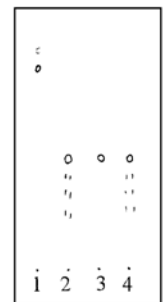


图 1 通脉颗粒赤芍 TLC 图
1. 赤芍阴性对照 2. 样品
3. 芍药苷对照品 4. 赤芍药材对照

缸内,展开,取出,晾干,以碘蒸气熏至斑点清晰,供试品色谱中,在与对照药材和对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性无干扰。见图2。

2.3 川芎的鉴别^[2] 取本品细粉3g,加石油醚(60~90℃)30ml,超声20min,滤过,滤液回收至干,残渣加0.5ml乙醇溶解,作为供试品溶液。另取不含川芎药材的群药及川芎对照药材1g,同法制成阴性对照液及对照药材溶液。吸取上述三种溶液各2 μ l,分别点于同一块硅胶G薄层板上,以环己烷-醋酸乙酯(9:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外灯(365nm)下检视,供试品色

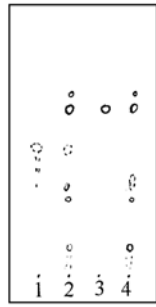


图2 通脉颗粒延胡索TLC图

1. 延胡索阴性对照 2. 样品
3. 延胡索乙素对照品 4. 延胡索药材对照

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。阴性无干扰。见图3

3 含量测定

3.1 薄层层析与扫描条件

吸附剂为硅胶G薄层板,展开剂为氯仿-甲醇-水(65:35:10)10℃以下放置过夜的下层溶液,显色剂为10%硫酸乙醇溶液,显色条件为100℃烘约5min,显色后,用同样大小的干净玻璃板覆盖,并用胶条封严四周,测定波长 λ 为500nm,参比波长 λ_r 为650nm, $SX=3$,扫描方式为双波长反射法锯齿扫描。



图3 通脉颗粒川芎TLC图

1. 川芎阴性对照 2. 样品 3. 川芎药材对照品

3.2 供试品溶液的制备 取本品细粉2g,置索氏提取器中,加甲醇40ml,冷浸过夜,再加甲醇适量,回流5h,提取液回收甲醇并浓缩至干,残渣加水10ml,微热使溶解,用水饱和的正丁醇振摇提取5次(20ml \times 3,10ml \times 2),合并正丁醇提取液,用氨试液提取2次,

每次20ml,弃去氨试液,正丁醇液蒸干,残渣加水5~10ml,使溶解,放冷,通过D₁₀₁大孔树脂柱(4.0cm \times 12.5cm),以水50ml洗脱,弃去水液,再用40%乙醇30ml洗脱,弃去40%乙醇洗脱液,继用70%乙醇50ml洗脱,收集洗脱液,蒸干,用甲醇溶解并转移至2ml量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

3.3 对照品溶液的制备 精密称取黄芪甲苷对照品1.8mg于2ml量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。作为对照品溶液。

3.4 空白试验 分别取供试品溶液,黄芪甲苷对照品溶液及缺黄芪药材的群药,同法制成的空白溶液,分别点于同一块硅胶G薄层板上,展开,取出,按上述条件扫描,记录色谱图。试验证明,空白溶液对制剂中黄芪甲苷的含量测定无干扰。

3.5 标准曲线的制备 用定量毛细管精密吸取黄芪甲苷对照品溶液1、2、3、4、5 μ l,分别点于同一块硅胶G薄层板上,按上述条件展开、显色、扫描、记录峰面积,以点样量(μ g)为横坐标,峰面积积分为纵坐标,线性回归方程为 $Y=7481.31+18060.21X$ $r=0.9960$ 。

3.6 精密度试验 精密吸取对照品溶液2 μ l,共5点,分别点于同一块硅胶G薄层板上,按上述条件扫描、测定。试验证明:5个斑点的峰面积积分值的RSD为0.93%。

3.7 稳定性试验 精密吸取供试品溶液8 μ l,按上述条件展开,显色,从显色15min起,每隔15min扫描测定一次,试验证明,黄芪甲苷在2h内斑点峰面积基本稳定。RSD为1.27%。

3.8 重现性试验 精密吸取同一批号供试品溶液8 μ l,共5份,按上述条件扫描、测定, RSD为1.12%。

3.9 回收率试验 采用加样回收法(1:1加入),取已知含量的颗粒细粉,共5份,每份2.0g,精密称定,按“供试品溶液制备”方法制

备样品溶液,分别精密加入黄芪甲苷对照品 0.746mg,按上述条件扫描,测定,平均回收率为 96.04%,*RSD* 为 1.20%。见表 1。

表 1 回收率测定结果($n=3$)

序号	样品中黄芪甲苷的量 (mg)	添加黄芪甲苷的量 (mg)	测出黄芪甲苷的量 (mg)	回收率 (%)
1	0.721	0.746	1.439	96.25
2	0.735	0.746	1.464	97.72
3	0.790	0.746	1.520	97.86
4	0.705	0.746	1.416	95.31
5	0.734	0.746	1.448	95.71

3.10 样品测定 用定量毛细管分别精密吸取对照品溶液 2 μ l、4 μ l 和第三批样品溶液 8 μ l,按上述条件扫描、测定,用外标两点法计算黄

表 2 样品测定结果($n=3$)

批号	黄芪甲苷的含量 (%)	<i>RSD</i> (%)
991208	0.0319	1.41
991218	0.0316	1.32
991228	0.0322	1.59

芪甲苷的量。见表 2。

4 讨论

赤芍薄层鉴别时,曾采用 Al_2O_3 柱净化,分离不好,阴性有干扰。改用聚酰胺柱净化处理样品,消除了阴性干扰,分离效果好。

参考文献:

- [1] 陈淑长,廖奕歆,动脉硬化性闭塞症的中医临床研究[J]. 北京中医学院学报,1991,14(2): 1~5.
- [2] 国家药典委员会编,中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京:化学工业出版社,2000. 125, 30~31, 249~250.
- [3] 张小茜,王京辉,周富荣. 皮肤康洗液质量标准的研究[J]. 中国中药杂志,1998,23(3): 157~160.
- [4] 康建国主编. 中成药薄层色谱鉴别[M]. 北京:人民卫生出版社,1995. 57.