

清上蠲痛颗粒的质量标准研究

孙 备, 杨士友, 裴月梅, 田 军, 吕 凌
(安徽省药物研究所, 合肥 230022)

摘要: 采用TLC法对当归、川芎、麦冬、独活、苍术、黄芩组分进行薄层色谱鉴别, 建立了川芎、当归二味药材的阿魏酸含量测定方法, 以控制二药材的质量。同时测定了颗粒醚浸出物的含量。结果: 阿魏酸在0.5721~2.8605 μ g范围内具有良好的线性关系, 回收率平均值为98.55%, RSD为2.44%。结论: 本质量标准可有效地控制清上蠲痛颗粒的质量。方法简便、快速、重现性好。

关键词: 阿魏酸; 清上蠲痛颗粒; 薄层扫描法

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2001)06-0003-03

Studies on Quality Standard of Qingshangjuantong Granule

SUN Bei, YANG Shi-you, PEI Yue-mei, TIAN Jun, LU Ling

(Anhui Institute of Pharmacy, Hefei, 230022)

Abstract: The qualitative identification of *Ligusticum chuanxiong*, *Angelica sinensis*, *Ophiopogon japonicus*, *Angelica pubescens f. biserrata*, *Atractylodes lancea* and *Scutellaria baicalensis* were used by thin-layer chromatography. The contents of ferulic acid in *L. chuanxiong* and *A. sinensis* herbs and the granule were determined by TLC-scanning method. Results: Ferulic acid had a good linear relationship in the range of 0.5721~2.8605 μ g. The recovery and RSD were 98.55% and 2.44%, respectively. Conclusion: This standard is capable to effectively control the quality of granule.

Key words: Ferulic acid; Qingshangjuantong granule; TLC-scanning method

清上蠲痛颗粒处方源于《寿世保元》清上蠲痛汤。主要由当归、川芎、白芷、黄芩等药味组成。药理研究表明有活血通络、镇痛抗炎的作用。临床研究表明具有祛风止痛、活血养血之功效。对临床上的血管神经性头痛有较好疗效。我们对此方进行了开发, 研制成服用方便、疗效确切的中药制剂, 并制订了成品的质量标准。

1 仪器与试药

1.1 仪器 CS-9000薄层扫描仪(日本岛津公司)

1.2 试剂 所用试剂均为化学纯。

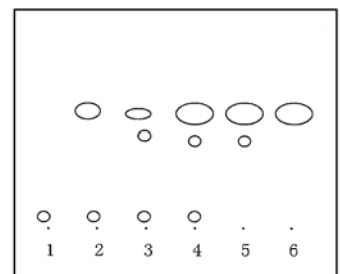
1.3 对照品 阿魏酸对照品购自中国药品生物制品检定所。经面积归一化法测定含量均大于98%。黄芩苷对照品也购自中国药品生物制品检定所。

1.4 对照药材 当归、川芎、麦冬、独活、苍术、黄芩对照药材均购自中国药品生物制品检定所。

2 方法和结果

2.1 薄层鉴别试验^[1-2]

2.1.1 当归和川芎的薄层鉴别 取颗粒5g, 研细, 加乙醚15ml, 浸泡24h, 不时振摇, 滤过, 滤液浓缩到1ml, 作为供试品溶液。另取当归和川芎对照药材各0.5g, 同法制成对照药材溶液, 照薄层扫描法(中国药典1995版1部附录VB)试验, 吸取



1. 缺川芎、当归 2. 缺川芎 3. 缺当归 4. 供试品 5. 川芎对照药材 6. 当归对照药材

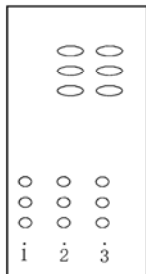
图1 川芎、当归 TLC 鉴别图

上述三种溶液各3 μ l, 分别点于同一硅胶G薄层板上, 以石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)-醋酸乙酯(9:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外灯(365nm)下检视, 供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色荧光斑点。见图1。

2.1.2 独活的薄层鉴别 取颗粒5g, 研细, 加乙醚15ml, 浸泡24h, 不时振摇, 滤过, 滤液挥干, 残渣加氯仿1ml使溶解, 作为供试品溶液。另取独活对照药材0.5g, 同法制成对照药材溶液。照薄层扫描法(中

国药典 1995 版 1 部附录 VB) 试验, 吸取上述两种溶液各 4 μ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正己烷-苯-乙酸乙酯(2: 1: 1) 为展开剂, 展开 16cm 以上, 取出, 晾干, 置紫外灯下(365nm) 检视。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同荧光斑点。见图 2。

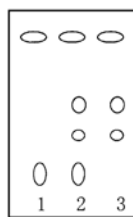
2.1.3 苍术的薄层鉴别 取颗粒 8g, 研细, 加乙醚 20ml, 加热回流 30min, 放冷, 滤过, 滤液低温挥干, 残渣加乙酸乙酯 1ml 使溶解, 作为供试品溶液。另取苍术对照药材 0.5g, 同法制成对照药材溶液。照薄层扫描法(中国药典 1995 版 1 部附录 VB)



1. 缺独活 2. 供试品 3. 独活对照药材

图 2 独活 TLC 鉴别图

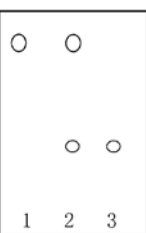
试验, 吸取上述两种溶液各 5 μ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚(60~ 90 $^{\circ}$ C)-醋酸乙酯(20: 1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 二甲氨基苯甲醛的 10% 硫酸溶液, 在 105 $^{\circ}$ C 烘至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同暗绿色斑点。见图 3。



1. 缺苍术 2. 供试品 3. 苍术对照药材

图 3 苍术 TLC 鉴别图

2.1.4 黄芩的薄层鉴别 取颗粒 5g, 研细, 加无水甲醇 20ml, 加热回流 30min, 放冷, 滤过, 滤液浓缩至 10ml, 作为供试品溶液。另取黄芩苷对照品, 加甲醇制成每 ml 含 1mg 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层扫描法(中国药典 1995 版 1 部附录 VB) 试验, 吸取上述两种溶液各 3 μ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以醋酸乙酯-丁酮-甲酸-水(5: 3: 1: 1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 1% 三氯化铁乙醇溶液。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色斑点。见图 4。



1. 缺黄芩 2. 供试品 3. 黄芩苷

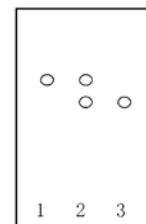
图 4 黄芩 TLC 鉴别图

2.1.5 麦冬的薄层鉴别 取颗粒 20g, 加水 40ml, 加热使溶解, 加盐酸 1ml, 煮沸 5min, 放冷, 用氯仿 20ml 振摇提取, 分取氯仿层, 浓缩至约 1ml, 作为供试品溶液。另取麦冬对照药材 1g, 加水 20ml, 煎煮 10min, 滤过, 取滤液加盐酸 0.5 ml, 同法制成对照药材溶液。照薄层扫描法(中国药典(1995 版 1 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, 以氯

仿-丙酮(4: 1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 在 100 $^{\circ}$ C 烘至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色斑点。见图 5。

2.2 阿魏酸含量测定^[3-7]

2.2.1 扫描条件 单波长反射式锯齿扫描。λ= 322nm, Sx = 3。根据峰面积积分值, 以外延两点法计算样品中阿魏酸含量。



1. 缺麦冬 2. 供试品 3. 麦冬对照药材

图 5 麦冬 TLC 鉴别图

2.2.2 样品处理 成品颗粒的供试品制备: 精密称取颗粒约 10g, 置烧杯中用 100ml 蒸馏水加热使溶解, 冷却后用盐酸调 pH 值至 1~ 2, 用乙醚提取 4 次, 每次 20ml, 合并乙醚液, 用 2% 碳酸钠溶液提取 4 次, 每次 20ml, 合并碱液, 用稀盐酸调 pH 至 6~ 7, 以苯 20ml 洗涤 2 次, 弃去苯液, 水液于水浴上挥去残余苯, 用稀盐酸调 pH 至 2~ 3, 再用乙醚提取 4 次, 每次 20ml, 合并乙醚液, 水浴挥干, 残渣用乙醇分次溶解, 移至 2ml 容量瓶中, 用乙醇稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。操作尽量避免。另取阿魏酸对照品配成 0.5mg/ml 的溶液。取缺川芎、当归的颗粒样品同法制成阴性对照样品溶液。将三种溶液同点于同一硅胶 G 板上, 样品和阴性对照品溶液点 2, 4 μ l, 阿魏酸对照品溶液点 1, 5 μ l。照薄层扫描法(中国药典 1995 版 1 部附录 VB) 试验。以石油醚(60~ 90 $^{\circ}$ C)-氯仿-冰醋酸(12: 4: 1) 为展开剂, 展开, 取出晾干, 进行扫描。

药材供试样品的制备: 称取药材粉末 1g, 精密称定, 加无水乙醇每次 20ml, 超声 3 次, 每次 30min。滤过, 合并乙醇液, 水浴挥干, 残渣加 60ml 2% 碳酸钠溶液分次溶解, 合并碱液, 用稀盐酸调 pH 值 7~ 8, 用苯洗涤一次, 弃去苯液, 再调 pH 为 2, 用乙醚萃取 4 次, 每次 20ml, 合并乙醚液, 水浴挥干, 用无水乙醇定容至 2ml。以下按成品中样品制备方法中方法点样、展开、测定计算。

2.2.3 线性考察 精密吸取对照品溶液(0.5721mg/ml) 1, 2, 3, 4, 5 μ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 按上述条件展开扫描。以峰面积积分 A 为纵坐标, 点样量 C(μ g) 为横坐标, 进行回归分析, 得回归方程 A = 87620.3C - 10220.2, r = 0.9996。阿魏酸在 0.5721 ~ 2.8605 μ g 范围内线性关系良好。

2.2.4 稳定性考察 将阿魏酸对照品层析斑点每隔 0.5h 同条件重复扫描一次, 结果表明阿魏酸在 2h

内基本稳定, $RSD < 2.0\%$ 。

2.2.5 精密度考察 在同一薄层板上点五个相同量的供试品溶液斑点, 按上述方法展开, 扫描测定阿魏酸斑点的峰面积。经过统计学处理, 计算变异系数 RSD 为 0.75% 。

2.2.6 重现性考察 取同一批号样品, 按上述方法处理, 进行含量测定, 同样条件重复实验六次, 结果经统计学处理, 变异系数为 2.66% 。

2.2.7 加样回收率试验 取同一批已知含量的样品共五份, 各加入阿魏酸对照品 0.56mg 。按上述方法进行含量测定。结果平均回收率为 98.55% , $RSD = 2.44\%$ 。见表1。

表1 回收率试验结果

序号	原有量 (mg)	添加量 (mg)	测出量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)($n=5$)
1	0.4886	0.56	1.0383	98.13		
2	0.4467	0.56	0.9990	98.55		
3	0.4045	0.56	0.9606	99.30	98.55	2.44
4	0.4411	0.56	0.9732	95.01		
5	0.1588	0.56	0.7283	101.69		

2.2.8 几批样品及药材含量测定 按上法测定几批颗粒和药材的含量, 结果如表2和3。

表2 不同批号清上痛颗粒中的阿魏酸含量

批号	980501	980502	980901	980902
含量(mg/10g)	0.65	0.78	0.67	0.56

表3 不同批号川芎、当归药材中的阿魏酸含量

批号	阿魏酸含量(%)	
批号	川芎	当归
01	0.053	0.031
02	0.058	0.021
03	0.063	0.023
04	0.071	0.028
05	0.055	0.018

根据以上测定结果, 暂定川芎阿魏酸含量为不得低于 0.05% , 当归阿魏酸含量为不得低于 0.02% 。

2.3 浸出物量测定

2.3.1 醚溶性浸出物 取本品颗粒约 5g , 置五氧化二磷干燥器中, 干燥 12h , 精密称定重量, 置索氏提取器中, 加乙醚适量, 回流提取 6h , 取乙醚液, 置干燥至恒重的蒸发皿中, 低温挥去乙醚, 残渣置五氧化二磷干燥器中, 干燥 18h , 精密称定重量, 即得供试品中含有醚溶性浸出物的重量。

2.3.2 挥发性醚溶液出物 取上述醚溶性浸出物, 置烘箱中, 缓缓加热至 105℃ , 干燥至恒重。其减失重量即挥发性醚溶浸出物量。

2.3.3 几批样品的浸出物测定结果

表4 不同批号清上痛颗粒中的浸出物含量

批号	980501	980502	980901	980902
醚溶性浸出物%	1.21	1.22	1.33	1.34
挥发性醚浸出物%	0.27	0.40	0.37	0.24

根据测定结果, 将醚溶性浸出物的量定为不得小于 1.2% , 将挥发性醚浸出物的量定为不得小于 0.20% 。

3 小结与讨论

本方中的君药为川芎, 因此拟定以阿魏酸含量作为成品质量控制标准, 然而方中另外一味药当归也含有阿魏酸, 因此成品中所测得的阿魏酸为二药材的阿魏酸总含量。为了进一步更好地控制质量, 同时拟定了以上二药材的阿魏酸含量控制指标。由于本方中川芎和当归所占的比例不是很大, 而阿魏酸在药材中含量本来就不高, 所以导致了成品中阿魏酸含量偏小。为了解决这个问题, 我们补充了颗粒浸出物量这一指标加以辅助。综合起来可以控制好成品的质量。

复方制剂中的阿魏酸含量测定, 文献报道有 TLC 和 HPLC 两种方法。用 TLC 法测定成本低, 易操作, 因此对本样品应用 TLC 法进行含量测定。对样品的处理文献方法很多, 但均不适用于本品。经过反复摸索, 我们建立了目前的样品提取方法, 基本能将干扰分离开。

根据我们的实验发现, 阿魏酸在提取过程中受温度和光照影响大, 因此操作尽量避光和过热。提取基本采用酸碱分离法, 在用碱液提取后, 调至中性后用苯洗效果较好, 去除的干扰杂质较多。用萃取法比和索氏提取法提取的效果好, 更方便快速。

参考文献:

- [1] 王常铭, 王天玲. 大蜜丸中当归成分阿魏酸的薄层鉴别[J]. 中成药, 1989, 11(12): 13.
- [2] 王宝葵. 中成药质量标准与标准物质研究[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1994. 323.
- [3] 赵春香, 于洪年, 宋英姬, 等. 薄层扫描法测定脑痛平胶囊阿魏酸含量[J]. 中国中药杂志, 1997, 22(4): 226-227.
- [4] 李光华, 罗西湘, 张砚农. 当归制剂中阿魏酸含量测定法[J]. 中成药研究, 1986, (10): 43.
- [5] 贾丹兵, 范素琴, 黄海波. 健脾灵片的稳定性实验研究[J]. 中草药, 1992, 23(7): 359.
- [6] 任延军, 阙宁宁. 中成药中阿魏酸含量的薄层扫描测定法[J]. 中国药学杂志, 1991, 26(12): 736.
- [7] 王雅娟, 陈颖萍, 郭安, 等. 当归补血口服液阿魏酸的含量测定[J]. 中药新药与临床药理. 1996, 7(3): 32.