

• 药剂 •

疏肝颗粒质量标准的研究

杨 蕾, 马燕琼, 何夏秋, 贺建华, 刘建勋(中国中医研究院西苑医院, 北京 100091)

摘要: 以 TLC 法鉴别了该方中的柴胡、补骨脂、叶下珠, 并采用双波长薄层扫描法测定了复方中补骨脂素的含量, 回收率为 97.5%, $RSD=1.79\%$ 。

关键词: 疏肝颗粒; 补骨脂素; 薄层扫描法

中图分类号: 284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2000)04-0005-03

Studies on Quality Control Standard of Shugan Granule

YANG Lei, MA Yan-qiong, HE Xia-qi, HE Jian-hua and LIU Jian-xun

(Xi Yuan Hospital, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing, 100091)

Abstract: Radix bupleuri, fructus psoraleae and fructus forsythiae in Shugan granule were identified qualitatively by TLC methods. The content of psoralen in the granule was determined by TLC scanner method. The average recovery and RSD were 97.5% and 1.79% ($n=5$), respectively.

Key words: Shugan granule; psoralen

疏肝颗粒由柴胡、补骨脂、叶下珠、冬虫夏草等十味药研制而成; 具有补益肝肾、舒肝解郁、益阴补虚、解毒安神等作用。临床用于肝肾阴虚、肝郁气滞引起的各种慢性肝炎。为了建立本品制控标准, 我们对其中的柴胡、补骨脂、叶下珠鉴别方法进行了研究。柴胡、补骨脂为本处方中的君药, 补骨脂在处方中的量高于柴胡, 考虑到补骨脂素在补骨脂中的含量高, 故选择该药中主药补骨脂的主要有效成分补骨脂素作为定量指标, 用薄层扫描法进行含量测定。结果表明该法操作简便、结果准确、重复性好, 可以作为该药品的制控指标。

1 材料、仪器与试药

CS-9301 型双波长薄层扫描仪(日本岛津), 定量毛细管(美国 Drummond Co 生产), 硅胶 GF₂₅₄ 板, 硅胶 G 板(薄层层析规格, 青岛海洋化工厂)

试药: 补骨脂素(供含量测定用, 均由中国药品生物制品检定所提供)。异补骨脂素对照品、柴胡对照药材(供鉴别用, 由中国药品生物制品检定所提供), 叶下珠药材(经中国中医研究院中药所谢宗万教授鉴定, 其品种为 Fructus Forsythiae, 由北京市药材公司提供)。样品由本室自制(批号: 970412; 970414; 970416), 试验所用试剂均为分析纯。

2 薄层鉴别

2.1 柴胡 取本品 7.5g, 加 100ml 热水溶解, 超声处理 1h, 离心(3000 转, 15min), 倾出上清液, 上清液以石油醚脱脂 2 次, 每次 20ml, 弃去石油醚层, 水层挥尽石油醚后, 用水饱和过的正丁醇振摇提取 2 次, 每次 20ml, 提取液加入等体积的氨水溶液(pH=8)洗涤 1

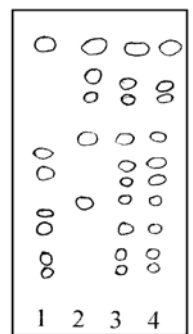


图 1 柴胡的 TLC 图谱

1. 空白
2. 对照药材
3. 4. 样品

次,合并正丁醇蒸干,残渣加入 2ml 甲醇使溶解,作为供试品溶液。另取柴胡对照药材 5.0g,加甲醇 80ml,回流 1h,蒸干,残渣用 20ml 水使溶解,过滤,滤液依法制成对照药材溶液。另取缺柴胡的一份处方量,模拟工艺制备,并按规定的供试品溶液制备方法制成缺柴胡阴性对照溶液。照薄层色谱法(中国药典 1995 年版一部附录 VIB) 试验,分别吸取上述三种溶液各 6 μ l 点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-甲醇-1%的氨水溶液(12: 3: 0.6)为展开剂,展开,取出,吹干,喷以 10% 的硫酸乙醇溶液,热风吹至斑点清晰时为止。供试品色谱中在与对照药材色谱相应位置上显相同颜色的斑点。缺柴胡阴性对照液色谱中则无此相应斑点,见图 1。

2.2 补骨脂 取本品 1g,加氯仿 25ml,超声提取 10min,滤液蒸干,残渣加入 1ml 氯仿使溶解,作为供试品溶液。取补骨脂素、异补骨脂素对照品,加氯仿制成每 1ml 各含 0.3mg 的溶液,作为对照品溶液。另取缺补骨脂的一份处方量,模拟工艺制备,并按规定

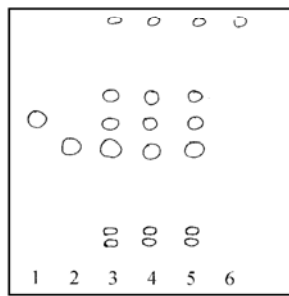


图 2 补骨脂的 TLC 图谱

1. 异补骨脂素
2. 补骨脂素
3. 4. 5. 样品
6. 空白

的供试品溶液制备方法制成缺补骨脂阴性对照溶液。照薄层色谱法(中国药典 1995 年版一部附录 VIB) 试验,分别吸取上述 4 种溶液各 2 μ l,点于同一硅胶 GF₂₅₄薄层板上,以苯-醋酸乙酯(9.5: 0.5)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(254nm)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。缺补骨脂阴性对照液色谱中则无相应斑点,见图 2。

2.3 叶下珠 取本品 7.5g,加 100ml 热水溶解,超声处理 1h,离心(3000 转,15min),

倾出上清液,上清液以石油醚脱脂 2 次,每次 20ml,弃去石油醚层,水层挥尽石油醚后,用醋酸乙酯振摇提取 3 次,每次 20ml,蒸干,残渣加入 2ml 甲醇使溶解,作为供试品溶液。另取叶下珠药材 5.0g,剪碎,以 85% 乙醇液回流提取 2 次,每次 1h,过滤,蒸干乙醇,残渣用 20ml 水于水浴加热使溶解,过滤,滤液依法制成对照药材溶液。另取缺叶下珠一份

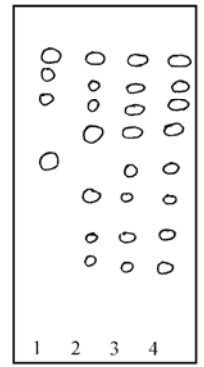


图 3 叶下珠的 TLC 图谱

1. 空白
2. 对照药材
3. 4. 样品

处方量,模拟工艺制备,并按规定的供试品溶液制备方法制成缺叶下珠阴性对照溶液。照薄层色谱法(中国药典 1995 年版一部附录 VIB) 试验,分别吸取上述 3 种溶液各 3 μ l,点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-醋酸乙酯-甲酸(6: 5: 1)为展开剂,展开,取出,吹干,喷以 10% 的硫酸乙醇溶液,热风吹至斑点清晰时为止。供试品色谱中在与对照药材色谱相应位置上显相同颜色的斑点。缺叶下珠阴性对照液色谱中则无此相应斑点,见图 3。

3 含量测定方法与结果

3.1 薄层条件 硅胶 GF₂₅₄薄层板(10cm \times 10cm),展开剂:苯-醋酸乙酯(9.5: 0.5),展开,取出晾干,置紫外光灯(254nm)下检视,用铅笔定位。

3.2 仪器条件:CS-9301 型双波长薄层扫描仪(日本岛津),定量毛细管(美国 Drummond Co 生产),硅胶 GF₂₅₄板, $\lambda_r = 240\text{nm}$, $\lambda_s = 370\text{nm}$ ^[1]。

3.3 线性关系的考察 精密称取补骨脂素对照品 1.68mg,在氯仿配制成浓度为每 1ml 含 0.336mg 的溶液。精密吸取补骨脂素对照品溶液 2, 4, 6, 8, 10 μ l 点于同一薄层板上,依法展开,测定。以点样量(μ g)对峰面积积分值进行回归分析,得标准曲线为 $Y = 2306.53x + 79.56$, $r = 0.9986$ 。在 0.672~

3.36 μg 点样量范围内,峰面积与点样量呈良好的线性关系。

3.4 样品测定 取本品约 1.0g,精密称定,置索氏提取器中。加氯仿 60ml,提取 6h,至提取液无色,提取液滤过,滤液蒸干,残渣加氯仿溶解,定容至 5ml 容量瓶中,用氯仿稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。另取补骨脂素对照品,加入氯仿配制成浓度为每 1ml 含 1.02mg 的溶液,作为对照品溶液。分别吸取供试品溶液 2 μl ,对照品溶液 1 μl 及 2 μl 交叉点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上,依法展开,扫描,采用外标二点法计算含量。测定三批疏肝颗粒中补骨脂素的含量,测定结果见表 1。

表 1 补骨脂素的含量($n=5$)

样品批号	补骨脂素含量(\bar{x} , mg/粒)	RSD(%)
970412	2.32	1.96
970414	2.48	2.59
970416	2.26	1.87

3.5 加样回收率试验:精密称定已知补骨脂素含量的疏肝颗粒(批号为 970414,含量为 2.48mg/粒)5 份。分别加入浓度为(1.02mg/ml)的补骨脂素对照品溶液 1ml,依法处理测定。计算加样回收率。结果见表 2。

表 2 加样回收试验

加样前补骨脂素含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	\bar{x} (%)	RSD (%)
2.468	1.020	3.458	97.1		
2.281	1.020	3.306	100.5		
2.336	1.020	3.319	96.4	97.6	1.79
2.425	1.020	3.406	96.2		
2.287	1.020	3.285	97.8		

3.6 稳定性试验 吸取供试品溶液各 2 μl 点于硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上,依法展开,扫描,每间隔半小时扫描一次。结果表明,斑点面积积分值在 3h 基本稳定。

3.7 精密度试验 在同一薄层板上分别用

微量毛细管吸取补骨脂素对照品溶液 2 μl 点 5 个点,依法测定,RSD 为 2.11%。另外,以同一浓度的对照品溶液,点于 5 块不同板上,其 RSD=2.95%,证明精密度良好。

3.8 重现性试验 对同一批号样品(970414),平行提取 5 份,测定补骨脂素含量(mg/粒)。结果为 2.46. 2.41. 2.57. 2.52. 2.44; 平均含量为 2.48, RSD 为 2.59%,说明重现性好。

4 讨论

4.1 柴胡中的主要活性成分为柴胡皂甙,曾试用药典方法鉴别柴胡,结构不够理想,改用热水并经超声提取,等体积的氨水除去杂质,柴胡经薄层后,斑点清晰,空白无干扰。

4.2 冬虫夏草在做鉴别时,由于其所含成分主要为蛋白质、角质等,与植物中所含蛋白质类似,无特异性鉴别方法,况且冬虫夏草为贵重药在制剂时以原药粉加入,故我们探索以冬虫夏草的显微特征为鉴别手段,通过显微镜下观察冬虫夏草中所含菌丝、刚毛、孢子囊清晰可见,而无冬虫夏草的空白,则无此特征,从而为含有冬虫夏草的复方鉴别提供了简便、可靠的方法。

4.3 叶下珠为地方用药,经文献报道,主要活性成分为黄酮、黄酮类化合物曾试用甲苯-乙酸乙酯-甲酸(5:4:1)为展开剂,结果不理想,后改用氯仿-乙酸乙酯-甲酸(6:5:1)为展开剂后,薄层斑点清晰,为叶下珠的鉴别提供了初步的探索与方法。

参考文献:

- [1] 王宝荣. 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. 72~74.
- [2] 何夏秋, 贺建华. 阳威药酒质量标准的研究 [J]. 中药新药与临床药理, 1991, 2(3-4): 65.