

脾胃颗粒的质量标准研究

★ 杨虹娟 张习军 潘长明 张志坚 (江西省萍乡市中医院 萍乡 337000)

关键词:脾胃颗粒;薄层色谱法;高效液相;质量标准

中图分类号:TQ 460.6 **文献标识码:**B

脾胃颗粒是由三七、木香、党参、当归等多味药材组成的纯中药复方制剂,是本院李主任中医师的经验方。用于胃溃疡出血后期恢复阶段的修复治疗,疗效显著。为了有效控制本产品质量,研究质量标准课题已在 2008 年获省卫生厅审批同意立项。本文采用薄层色谱法对方中党参、黄芪、当归进行定性鉴别,同时采用高效液相色谱法对木香烃内酯进行了含量测定。

1 仪器与试药

岛津 LC-10AT 系列高效液相色谱仪,紫外检测器,CLASS-LC10A 色谱工作站;BP211D 型十万分之一电子天平(德国 Sartorius 公司),KQ-100DE 型数控超声波清光器(昆山市超声仪器厂);ZF-1 型三用紫外分析仪;硅胶 G(青岛海洋化工厂);木香烃内酯对照品,党参对照药材(批号 121057-200803)。黄芪对照药材(批号 120974-200806),当归对照药材(120927-200810),均购于中国药品生物制品检定所;脾胃颗粒(规格每袋 10 g),及阴性样品均为萍乡市中医院制剂室自制,甲醇、乙腈为色谱纯水,为重蒸馏水,其余试剂均为分析纯。

2 定性鉴别

2.1 黄芪的 TLC 鉴别 取本品 3 个批号各 30 g,研细,分别加石油醚(60~90℃)50 ml,超声处理 20 分钟、滤过,弃去滤液,药渣加正丁醇 50 ml,超声处理 50 分钟,滤过,滤液用 2% 氢氧化钠溶液洗涤 2 次,每次 25 ml,弃去碱液,再用正丁醇饱和的水洗涤 2 次,每次 25 ml,弃去水层,正丁醇液于水浴上蒸干,残渣加甲醇 2 ml 使溶解,作为供试品溶液。另取缺黄芪阴性供试品 30 g,同法制成阴性对照溶液。

再用黄芪对照药材 5g,同法制成对照药材溶液,照 TLC 法试验。吸取上述五种溶液各 10 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-甲醇-水(63:35:10)10℃ 以下放置 12 小时的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,于 105℃ 加热数分钟,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同的颜色的荧光斑点。阴性对照色谱中无干扰。

2.2 党参的 TLC 鉴别 取本品 3 个批号各 15 g,研细,分别加乙醇 40 ml,超声处理 10 分钟,过滤,滤液蒸干,残渣加水 20 ml 使溶解,用水饱和的正丁醇提取 3 次,每次 15 ml,合并提取液,回收正丁醇,残渣加甲醇 2 ml 使溶解。另取缺党参阴性供试品 15 g,同法制成阴性对照品溶液,再取党参对照药材 6 g,加乙醇 20 ml,超声处理 30 分钟,同法制成对照药材溶液,照 TLC 法试验。吸取上述五种溶液各 10 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以甲苯-醋酸乙酯-甲酸-甲醇(30:10:4:2)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 硫酸甲醇溶液,在 105℃ 烘约 5 分钟,置紫外光灯(365 nm)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,阴性对照无干扰。

2.3 当归的 TLC 鉴别 取本品 3 个批号各 15 g,研细,分别加甲醇 80 ml,超声处理 30 分钟,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加水 20 ml 使溶解,放冷,用乙醚提取 3 次,每次 20 ml,合并乙醚液,碱液用醋酸乙酯 15 ml,洗脱 1 次,弃去醋酸乙酯,碱液加盐酸酸化至 pH 2~3,再用苯 15 ml 洗脱一次,弃去苯液,继用乙醚提取 3 次,每次 15 ml,合并乙醚液,挥去乙醚,残

渣加甲醇 1 ml 使溶解,作为供试品溶液,另取缺当归阴性供试品 15 g,同法制成阴性对照溶液。再取当归对照药材 5 g,同法制成对照药材溶液,照 TLC 法试验。吸取上述五种溶液各 10 μ L,分别点同一硅胶 G 薄层板上,以苯-冰醋酸-甲醇(30:1:3)为展开剂,20 $^{\circ}$ C 以下展开,取出,立即置紫外光灯(365nm)下检视,供试品色谱中,与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,阴性对照无干扰,

3 含量测定

3.1 色谱条件 色谱柱:HYpersiloDSC₁₈ 柱(250 mm $\times$ 4 mm $\times$ 5 μ m)。流动相:甲醇-0.1% 磷酸(70:30) 流速:1.0 ml/min,柱温:40 $^{\circ}$ C,检查波长 225 nm。理论板数按木香烯内酯计算应不低于 3 000。

3.2 对照品溶液的制备 精密称取木香烯内酯对照品 10 g,置于 100 ml 量瓶中,加甲醇溶解稀释至刻度,摇匀,即得。

3.3 供试品溶液配制 取本品适量,粉碎成细粉(过 3 号筛),取 3 g,精密称定,置具塞三角瓶中,精密加入醋酸乙酯 50 ml,密塞,摇匀,称定重量,放置过夜,超声处理 30 分钟,取出,放冷,再称定重量,用醋酸乙酯补足减失的重量,摇匀,过滤,精密吸取续滤液 5 ml,置蒸发皿中,挥干,残渣加甲醇微热使溶解,转移 10 ml 量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,即得。

3.4 阴性试验 取缺木香的阴性对照药物,按供试品溶液制备方法制备成空白对照液,进样,测定。结果空白对照液在相同的位置处无与木香烯内酯相对应的色谱峰,表明空白对照无干扰。

3.5 线性关系的考察 分别精密吸取对照品溶液 2、4、6、8、10 μ L。按上述色谱条件进行测定,以峰面积积分值 X 为横坐标,对照品量 $A(\mu\text{g})$ 为纵坐标,做线性回归,得回归方程, $A = 7.71521X \times 10^{-8} - 0.00167923$, $y = 0.9998$,结果表明木香烯内酯在 0.2264 ~ 1.132 μg 范围内线性关系良好。

3.6 精密度试验 精密吸取对照品溶液 5 μ L,重复进样 5 次,按上述色谱条件测,木香烯内酯峰面积积分值的相对标准差 $RSD = 1.71\%$,表明仪器精密程度良好。

3.7 重现性试验 精密称取同一样品共 5 份,分别按样品测定法测定,结果木香烯内酯平均含量为 0.125 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $RSD = 1.98\%$,表明方重现性良好。

3.8 稳定性试验 取供试品溶液,每间隔 2 小时进样 1 次,共进样 5 次,按上述色谱条件分别测定,峰

面积积分值的 $RSD = 1.85\%$ ($n = 5$),表明供试品溶液在 10 小时内基本稳定。

3.9 加样回收率试验 取已知含量的本品(批号 20090116)5 份,每份 1.5 g,精密称定精密加入木香烯内酯对照品 1.2 mg,按供试品溶液制备方法 cas 操作,制成加样供试品液,依法测定,计算回收率,结果见表 1。

表 1 回收率试验结果

取样量(g)	木香烯内酯含量(mg)	对照品(mg)	测定量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1.5008	1.201	1.25	2.47	101.5		
1.5009	1.201	1.31	2.45	95.3		
1.5002	1.200	1.26	2.44	98.4	98.4	2.51
1.5004	1.200	1.24	2.44	100		
1.5001	1.200	1.27	2.43	96.8		

3.10 样品测定 分别精密吸取对照样品溶液 5 μ L,供试品溶液 20 μ L,注入液相色谱仪,测定,结果见表 2,根据此结果,暂定本品每袋含木香以木香烯内酯计,不得少于 1.20 mg。

表 2 3 批样品测定结果($n = 3$)

批号	平均含量(mg/g)	RSD(%)
20090116	0.125	1.52
20090210	0.137	0.80
20090214	0.152	1.45

4 讨论

党参性甘,平,归脾、肺经,在处方中起健脾益肺等作用,其主要成分皂甙,微量生物碱,氨基酸,粘液质和树脂等,在处方中其他药味中也含有。因此采用党参对照药材作为阳性对照,可保证方法的专属性。另外黄芪,当归经多次重复试验及分析试验结果,方法重现性好,专属性强,简便实用,斑点清晰,检验结果较理想。木香中木香烯内酯为含量较高的有效成分,是较为理想的指标性成分。试验中曾分别采用醋酸乙酯和甲醇作为提取溶剂制备供试品溶液,结果以甲醇为溶剂制备的供试品溶液 HPLC 色谱杂质较多,影响色谱的分离和测定,因此选择醋酸乙酯提取制备样品液。试验中曾以甲醇-水(85:15),甲醇-水(80:20),甲醇-0.1% 磷酸溶液(70:30)作流动相最为理想,供试品中木香烯内酯与其他成分得到完全的分离,且峰形对称。试验中经测定紫外吸收光谱,木香烯内酯在 225 nm 处有最大吸收,因此以该波长为测定波长。本方法简单易行,经方法学考察表明该方法重现良好,可为脾胃颗粒的质量控制提供较好的方法。

(收稿日期:2009-10-02 责任编辑:曹征)