

通腑醒神胶囊定性、定量方法研究

丘小惠, 赵瑞芝, 林华

(广东省中医院中心实验室, 广州 510120)

摘要: 采用薄层色谱法对通腑醒神胶囊中的番泻叶、虎杖、人工牛黄粉进行了定性鉴别, 其中番泻叶、虎杖为同板鉴别。采用分光光度法测定药品中总蒽醌甙含量; 同时, 采用薄层扫描法测定游离蒽醌大黄素的含量。本方法简便、准确、重现性好。

关键词: 通腑醒神胶囊; 蒽醌甙; 大黄素

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2001)01-0022-03

Studies on the Quality Control Standard of *Tongfuxingshen* Capsule

Qiu Xiao-hui, Zhao Rui-zhi and Lin Hua

(Guangdong Provincial Hospital of TCM, 510120)

Abstract: Folium sennae, rhizoma polygoni cupidati and artificial calcalus bovis in Tongfuxingshen Capsule were qualitatively identified by thin layer chromatography method. The quantitative assays were determined both of anthraquinone glucoside by spectrophotometer method and of emodin by the TLC-scanner method.

Key words: Tongfuxingshen Capsule; anthraquinone glucoside; emodin

通腑醒神胶囊是由番泻叶、虎杖、人工牛黄粉等多味药材组成的复方制剂, 其主要功能为通腑泻热, 豁痰开窍, 番泻叶、虎杖同为方中主药, 蒽醌类成分是它们的主要有效成分。本实验采用紫外分光光度法测定药品中总蒽醌甙含量; 同时, 采用薄层扫描法测定了大黄素含量来控制药品质量。

1 仪器与试药

CS-9301 双波长薄层扫描仪(日本岛津公司); 7550 紫外-可见分光光度计(上海分析仪器厂); 微量定量毛细管(美国); 电子天平(美国 Denver Instrument Company)。

1, 8-二羟基蒽醌、大黄素、芦荟大黄素、大黄酸、胆酸对照品(中国药品生物制品检定所); 硅胶 G(青岛海洋化工厂); 通腑醒神胶囊(本院制剂室生产); 实验药材(经本院药剂科鉴定均为药典收载品种); 所用试剂均为分析纯。

2 薄层色谱鉴别^[1, 2]

2.1 取通腑醒神胶囊内容物0.5g, 置索氏提取器中, 用氯仿回流至无色, 挥干氯仿, 残渣用5ml 甲醇溶解, 作为供试品溶液。同法制备缺番泻叶阴性对照品液、缺虎杖阴性对照品液。另取番泻叶药材粗粉0.5g, 用适量氯仿浸泡24h, 过滤, 滤液挥干氯仿,

残渣用5ml 甲醇溶解, 作为番泻叶药材对照品液。取虎杖药材粗粉0.5g, 置索氏提取器中提取至无色, 挥干氯仿, 残渣用5ml 甲醇溶解, 作为虎杖药材对照品液。取大黄素、芦荟大黄素、大黄酸对照品, 分别配制成0.2mg/ml、0.1mg/ml、0.1mg/ml 无水乙醇对照品液。分别吸取供试品液和药材对照液各4~6μl, 对照品液各2~4μl, 点于同一含0.3% CMC-Na 硅胶G板上, 以苯-甲酸乙酯-甲酸-甲醇(3:1:0.05:0.2)加0.5ml 水充分混匀, 取上层液为展开剂, 上行展开8.5cm, 取出, 挥干展开剂, 紫外灯下检视, 供试品色谱中, 在与番泻叶药材及芦荟大黄素、大黄酸对照品色谱相应位置上, 显相同颜色的斑点; 在与虎杖药材及大黄素对照品液色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点(见图1)。

2.2 按2.1法制备供试品液, 同法制备缺人工牛黄粉阴性对照液, 另取人工牛黄粉0.1g, 加无水乙醇5ml 超声振荡30min, 取上清液为人工牛黄药材对照液; 取胆酸对照品配成5mg/ml 的无水乙醇对照品液。分别吸取供试品液和药材对照液各2~4μl, 对照品液1~2μl, 点于同一含0.3% CMC-Na 硅胶G板上, 以氯仿-乙酸乙酯-冰醋酸(5:5:1)为展开剂, 展开16cm, 展开后挥干展开剂, 用10% 硫酸乙醇浸板显色, 105℃烘5min, 于可见光下下检视, 供试品色谱中, 在与药材及对照品液色谱相应位置上, 显相

同颜色的斑点(见图2)。

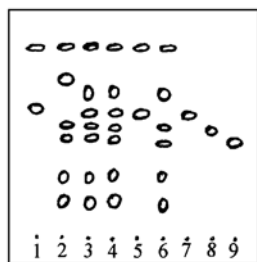


图1 番泻叶、虎杖鉴别试验

1. 缺番泻叶阴性对照液; 2. 番泻叶药材对照液; 3. 样品供试液; 4. 虎杖药材对照液; 5. 虎杖阴性对照液; 6. 缺虎杖阴性对照液; 7. 大黄素; 8. 芦荟大黄素; 9. 大黄酸

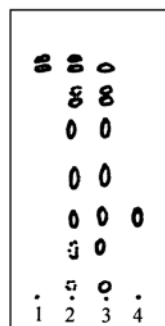


图2 人工牛黄粉鉴别试验

1. 缺人工牛黄阴性对照液; 2. 样品供试液; 3. 人工牛黄粉对照液; 4. 胆酸对照液

3 总蒽醌甙的含量测定

3.1 测定波长的选择 配制浓度为0.133mg/ml的1,8-二羟基蒽醌甲醇溶液,精密吸取2.5ml,置25ml容量瓶中,加0.5%醋酸镁溶液至刻度,摇匀,在可见光范围内以试剂空白作参比,测定其吸收度,得最大波长为510nm。

3.2 标准曲线的绘制 取测定波长的选择项下的1,8-二羟基蒽醌甲醇溶液,精密吸取0.5ml、1.5ml、2.5ml、3.5ml、4.5ml,分别置25ml容量瓶中,加0.5%醋酸镁溶液至刻度,摇匀,在可见光范围内以试剂空白作参比,于510nm波长处测定其吸收度,回归分析,得线性方程为: $A = 0.00905 + 41.71 \cdot r = 0.9999$,线性范围为0.066~0.332μg。

3.3 总蒽醌甙的含量测定^[3]

3.3.1 样品中总蒽醌甙的含量测定 取本品内容物细粉约0.5g,精密称定,置圆底烧瓶中,加水30ml。混匀,称定重量,连接冷凝管,置水浴中加热15min,放冷,称定重量,补足损失的溶媒量,摇匀,离心,精密量取上清液10ml,置150ml分液漏斗中,加1mol/L HCl溶液0.1ml,用氯仿提取3次,每次15ml,弃去氯仿层,水层加碳酸氢钠0.1g,振摇使充分溶解,精密量取5ml,加10.5%的三氯化铁20ml,摇匀,连接冷凝管,置水浴中加热20min再加盐酸1ml,继续回流20min,并时时振摇至沉淀完全溶解^[1]。放冷,加氯仿20ml回流2h,取出,冷却,分取氯仿层,容器及水层用氯仿洗涤2次,每次15ml,合并氯仿层,定容至50ml。精密量取氯仿液5ml,蒸发至干,残渣中精密加入0.5%醋酸镁甲醇溶液10ml

使溶解,照分光光度法(《中国药典》95版一部附录VB),以甲醇作空白,在510nm波长处立即测定吸收度,以1,8-二羟基蒽醌量计算得总蒽醌甙含量,结果见表1。

表1 样品中总蒽醌甙含量测定

批号	样品取样量(g)	吸收度(A)	每克样品中总蒽醌甙含量(以1,8-二羟基蒽醌计)(mg)	平均值(mg)
981225	0.4654	0.269	8.035	8.085 ± 0.055
	0.4740	0.278	8.162	
	0.4980	0.288	8.058	
990920	0.3902	0.193	6.781	6.819 ± 0.055
	0.4434	0.218	6.779	
	0.4150	0.208	6.896	

4 大黄素的含量测定

4.1 扫描波长 取大黄素标准品配制成0.22mg/ml的甲醇溶液,点样于薄层板上,展开,取出,挥干溶剂,用CS-9301薄层扫描仪在370~630nm内进行光谱扫描,得最大吸收波长为443nm。

4.2 线性考察 取浓度为0.22mg/ml的大黄素甲醇溶液,定量吸取2.0μl,4.0μl,6.0μl,8.0μl,10.0μl,点于同一0.3%CMC-Na硅胶G板上,展开,取出,挥干溶剂,于443nm波长处进行锯齿扫描,以点样量为横坐标,斑点面积积分值为纵坐标,得一线性回归方程: $Y = 3068.2X + 320.78$, $r = 0.9994$ 。

4.3 稳定性及点样精密度试验 展开后,挥干溶剂的大黄素斑点在0.5~3.0h内稳定,同板精密度试验变异系数CV=0.6%。

4.4 干扰因素的考察 将供试品溶液、大黄素对照品液及缺虎杖空白对照液点于同一块薄层板上,展开,取出,挥干溶剂,对缺虎杖空白对照液进行测定,结果在大黄素相应的色谱位置处无吸收,表明其它组分对大黄素测定无干扰。

4.5 样品处理及测定方法 取本品内容物细粉约0.5g,精密称定,置索氏提取器中,加氯仿150ml,水浴加热提取6h,挥干氯仿,残渣用5ml甲醇溶解,作为供试品溶液。精密称取大黄素对照品1.1mg,加无水乙醇溶解并定容至10ml,为对照品溶液。定量吸取供试液4.0μl两份,对照品液2.0μl,4.0μl各两份,分别点于同一含0.3%CMC-Na硅胶G板上,以苯-甲酸乙酯-甲酸-甲醇(3:1:0.05:0.2)加0.5ml水充分混匀,取上层液为展开剂,上行展开8.5cm,取出,挥干展开剂,照薄层色谱法(《中国药典》95版一

部附录 VIB) 进行, 在波长 $\lambda=443\text{nm}$ 处, 锯齿扫描, 测定供试品和对照品大黄素斑点的吸收度积分值, 用外标两点法计算, 结果见表 2。

表 2 样品含量测定

批号	取样(g)	大黄素含量(mg/g)	平均值(mg/g)
981225	0.5059	0.952	0.974±0.04
	0.5093	0.940	
	0.5199	1.031	
990920	0.4366	1.297	1.267±0.034
	0.4220	1.219	
	0.4242	1.286	

4.6 回收率试验 精密吸取浓度为0.54mg/ml 的大黄素对照品液 1.0ml, 与 0.5mg 样品液混匀, 挥干溶剂, 置索氏提取器中按项 4. 方法提取, 配制成 10ml 回收率试验供试品液, 同法测定, 结果见表 3。

表 3 回收率试验

样 品 取样量 (g)	大黄素 含 量 (mg)	加入大 黄素量 (mg)	测得大 黄素含 量(mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	变异系数 (%)
0.5020	0.489	0.54	1.042	101.3	99.4	0.94
0.4906	0.478	0.54	1.010	99.2		
0.4897	0.477	0.54	1.002	98.5		
0.4992	0.486	0.54	1.012	99.2		
0.5011	0.488	0.54	1.024	99.6		

5 讨论

5.1 据文献报导^[4, 5], 番泻叶主含番泻叶甙 A、B、C 等双蒽酮甙类成分, 是其致泻作用的主要有效成分, 番泻叶甙易受热分解为甙元而失效, 因此番泻叶甙

的含量与成品药效是密切相关的。每个番泻叶甙分子通过水解、氧化, 可转化为二个含 1, 8-二羟基蒽醌结构的分子。但由于药品中蒽醌甙包括番泻叶及虎杖两味药材所含的总蒽醌甙, 测得的蒽醌甙含量并不能代表番泻叶或虎杖各自的投药量。因此, 本实验采用紫外分光光度法测定总蒽醌甙含量来控制药品质量。同时, 采用薄层扫描法测定了番泻叶药材中检测不到的大黄素含量来控制虎杖药材含量, 亦间接地控制了番泻叶药材的含量。

5.2 蒽醌甙含量测定中, 其水解氧化回流时间、温度须严格控制。由于目前国内结合蒽醌标准品难以得到, 分别采用已知含量的对照药材和 1, 8-二羟基蒽醌标准品进行回收率试验, 回收率均可达 95% 以上。但 1, 8-二羟基蒽醌为单蒽醌甙元, 加样回收率试验标准品在样品制成供试液后直接加入, 不能反映预处理过程的影响; 而采用已知含量的对照药材经提取纯化, 模拟真实性好, 但药材本身同系物的干扰, 掩盖了系统误差。

参考文献:

[1] 张淑英. 小儿风痰丸的鉴别研究[J]. 中成药, 1989, 11(2): 42.

[2] 倪坤仪. 牛黄降压丸和珠黄散中牛黄的有效成分的薄层定量[J]. 中成药. 1989. 11(9): 13.

[3] 中华人民共和国药典[S]. 一部. 广州: 广东科学技术出版社, 1995. 308~ 309.

[4] 梅全喜. 现代中药药理手册[M]. 北京: 中国中医药出版社, 年. 244, 372.

[5] 王浴生. 中药药理与应用. 第二版. 北京: 人民卫生出版社, 年. 1164.