

瘢痕涂膜质量标准的研究

辽宁中医学院(沈阳 110032)

王玉珍*

陈再兴

孟宪生

王东

龙沛霞

摘要 采用薄层色谱法对瘢痕涂膜中五倍子、苦参、冰片、甘草等成分进行鉴别,薄层扫描法测定丹参酮Ⅱ_A的含量,加样回收率为95.4%, $RSD=2.1\%$ ($n=6$)。

关键词 瘢痕涂膜 丹参酮Ⅱ_A 薄层扫描法

瘢痕涂膜系由丹参、川芎、五倍子、苦参、冰片等十二味中药经科学方法提取精制成新型外用新药,用于预防和辅助治疗增生挛缩性瘢痕。经药效学试验和临床观察,疗效显著。为更好地控制本品的内在质量,保证疗效,笔者采用薄层色谱法对其中五倍子等4味药进行化学成分鉴别,用薄层扫描法测定其有效成分丹参酮Ⅱ_A的含量,为本品建立一个较完善的控制质量的标准^[1,2]。

1 仪器与试剂

CS-930 薄层扫描仪(日本岛津),硅胶G、硅胶GF₂₅₄(薄层层析用,青岛海洋化工厂),没食子酸、氧化苦参碱、槐定碱、冰片、甘草酸铵、丹参酮Ⅱ_A对照品由中国药品生物制品检定所提供,瘢痕涂膜由鞍钢华泰药业公司提供,所用试剂均为分析纯。

2 薄层鉴别

2.1 五倍子中没食子酸的鉴别

2.1.1 对照品溶液的制备:取没食子酸对照品,加乙醇制成0.5 mg/mL的溶液,作为对照品溶液。

2.1.2 阴性对照溶液的制备:按处方取除被测药材外的各味药材,照供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液(以下各阴性对照溶液的制备方法相同)。

2.1.3 薄层层析:照薄层色谱法(《中国药典》95版一部附录35页)试验,吸取含量测定项下的供试品溶液5 μ L,对照品溶液3

μ L,分别点于同一用2%氢氧化钠溶液制备的羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶G薄层板上,以氯仿-甲醇-甲酸(15:5:1)为展开剂,在15℃以下展开,取出,晾干,喷以3%三氯化铁乙醇溶液。供试品色谱中,在与对照品色谱相同的位置上,显相同的蓝黑色斑点。

2.2 苦参中氧化苦参碱和槐定碱的鉴别

2.2.1 供试品溶液的制备:取本品20 g置玻板上,铺成薄膜,晾干后剪碎,加入0.2%盐酸溶液100 mL,超声处理1 h,倾出上清液,加浓氨试液,调pH 8~10,用氯仿提取3次,每次20 mL,合并氯仿提取液,蒸干,残渣加氯仿0.5 mL使溶解,作为供试品溶液。

2.2.2 对照品溶液的制备:取氧化苦参碱和槐定碱对照品,加乙醇制成各含0.2 mg/mL混合溶液,作为对照品溶液。

2.2.3 薄层层析:照薄层色谱法(《中国药典》95版一部附录35页)试验,吸取供试品溶液25 μ L,对照品溶液5 μ L,分别点于同一用2%氢氧化钠溶液制备的硅胶G薄层板上,以环己烷-氯仿-甲醇-浓氨试液(3:5:1.5:0.5)的下层溶液为展开剂,展开,展距约15 cm,取出,晾干,喷以碘化铋钾试液。供试品色谱中在与对照品色谱相应的位置上,显相同的两个红橙色斑点。

2.3 冰片的鉴别

2.3.1 供试品溶液的制备:取本品4 g,置于玻板上,铺成薄膜,晾干后剪碎,置于具塞锥

* Address: Wang Yuzhen, Liaoning College of Traditional Chinese Medicine, Shenyang

王玉珍 女,副教授,毕业于沈阳药科大学药理学系。从事分析化学教学与中药分析的研究,近年来参加多项中药新药与保健品的研制与开发,完成省级科研课题1项,发表论文近20篇。现任辽宁中医学院分析化学教研室主任。

形瓶中,加乙醚 10 mL,密塞,振摇,放置过夜,倾出上清液,作为供试品溶液。

2.3.2 对照品溶液的制备:取冰片对照品,加甲醇-氯仿(1:1)混合液制成 5 mg/mL 溶液,作为对照品溶液。

2.3.3 薄层层析:照薄层色谱法(《中国药典》1995 年版一部附录 35 页)试验,吸取供试品溶液和对照品溶液各 4 μ L,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上,以石油醚(30℃~60℃)-醋酸乙酯-氯仿(22:2:6)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 1%香草醛硫酸溶液,在 110℃烘数分钟。供试品色谱中,在于对照品色谱相应的位置上,显两个相同的紫红色斑点。

2.4 甘草酸铵的鉴别

2.4.1 供试品溶液的制备:取本品 40 g 慢慢滴加水 40 mL,边加边搅拌,滤过,滤液用正丁醇提取 3 次,每次 20 mL,合并正丁醇液,用水洗涤 3 次,每次 10 mL,正丁醇提取液置水浴上蒸干,残渣加甲醇 5 mL 使溶解,作为供试品溶液。

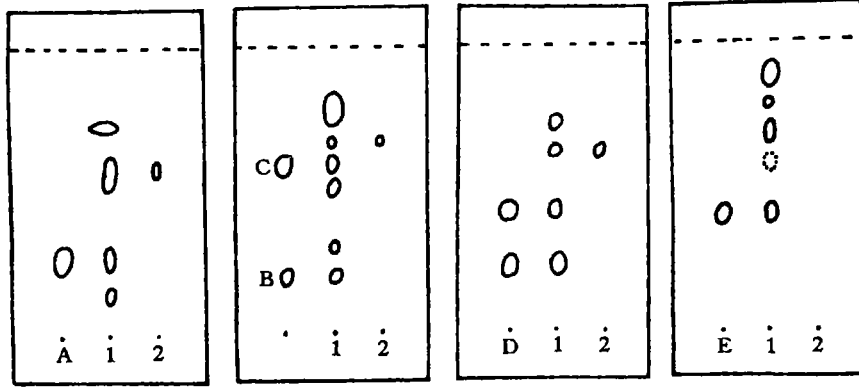
2.4.2 对照品溶液的制备:取甘草酸铵对照品,加甲醇制成 2 mg/mL 溶液,作为对照品溶液。

2.4.3 薄层层析:照薄层色谱法(《中国药典》1995 年版一部附录 35 页)试验,吸取供试品溶液和对照品溶液各 5 μ L,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上,以正丁醇-浓氨试液-乙醇(2:6:7)为展开剂展开,取出,晾干,置紫外光灯(254 nm)下检视。供试品色谱中,在对照品色谱相应的位置上,显相同的蓝褐色斑点。见图 1。

3 丹参酮Ⅱ_A的含量测定

3.1 薄层层析及扫描条件:薄层板:含 3% 羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板,厚 0.3 mm,105℃~110℃活化 30 min;展开剂:石油醚(60℃~90℃)-苯-醋酸乙酯(15:5:1),饱和 10 min,展距 8 cm;反射法锯齿扫描; $\lambda_s=480\text{ nm}$, $\lambda_R=700\text{ nm}$;Sx=3。

3.2 丹参酮Ⅱ_A提取方法的选择:丹参酮Ⅱ_A为丹参中脂溶性成分,溶于乙醇、醋酸乙酯、乙醚等溶剂。本品所用成膜材料聚乙烯醇缩丁醛也溶于乙醇和醋酸乙酯,但不溶于乙醚,故选用乙醚做提取溶剂。提取方法:将样品铺成薄膜,挥散溶剂,分别用乙醚①冷浸 24 h;②超声提取 30 min;③索氏提取器提取至无色;第④种方法是取样后,直接往样品中



A-没食子酸 B-氧化苦参碱 C-槐定碱 D-冰片 E-甘草酸铵 1-供试品 2-阴性对照

图 1 薄层色谱图

加乙醚至基质析出,放置,取上清液进行测定。用上述 4 种方法提取后,测定丹参酮Ⅱ_A的含量,试验结果表明,用第④种方法提取丹参酮Ⅱ_A效率高。

3.3 供试品溶液的制备:取本品 20 g,精密称定,逐步滴加乙醚 50 mL,边加边搅拌,定量转移至 100 mL 棕色量瓶中,加乙醚稀释至刻度,充分振摇,放置过夜。精密量取上清液 50

mL,挥散溶剂至 3 mL,滴加乙醚 20 mL,边加边搅,定量转移至 50 mL 棕色量瓶中,用乙醚稀释至刻度,摇匀,放置 4 h。精密量取上清液 25 mL,用水 15 mL 洗涤,取乙醚层,蒸干,残渣用氯仿-无水乙醇(4:1)混合液溶解,定量转移至 2 mL 棕色量瓶中,用上述混合液稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

3.4 对照品溶液的制备:取丹参酮Ⅱ_A对照品,加乙醇溶解并制成 0.5 mg/mL 溶液,作为对照品溶液。

3.5 线性关系的考查:吸取对照品溶液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 μ L,点于薄层板上,按上述薄层色谱条件展开,扫描,以丹参酮Ⅱ_A点样量为横坐标,以吸收度积分值为纵坐标作图,得一直线,回归方程为: $Y=346.7+16053.2X$, $r=0.9988$ 。测定结果表明,丹参酮Ⅱ_A在 0.50~2.50 μ g 范围内,具有良好的线性关系。由于标准曲线不通过原点,定量时应采用外标二点法。

3.6 稳定性试验:取供试品溶液 10 μ L,点于薄层板上,按上述色谱条件展开,取出,晾干后立即扫描,每隔 1 h 测定 1 次,试验结果表明,丹参酮Ⅱ_A斑点吸收度积分值在 2 h 处明显减小。若将薄层板从层析缸中取出晾干后,立即覆盖一玻璃板,重复上述试验,测定结果表明丹参酮Ⅱ_A斑点在 5 h 内稳定。

供试品溶液稳定性试验:将供试品溶液按 0、2、4、6、8、24 h 时间间隔测定丹参酮Ⅱ_A的含量,结果表明,在 24 h 内供试品溶液中丹参酮Ⅱ_A的含量基本无变化($RSD=1.6\%$)。

3.7 精密度试验:在同一薄层板上和不同薄

层板上各点 6 个同样量(4 μ L)对照品溶液,按上述条件展开、扫描测定,计算吸收度积分值的 RSD ,同板为 1.2%,异板为 2.9%。

3.8 样品含量测定:照薄层色谱法(《中国药典》1995 年版一部附录 35 页)试验,吸取供试品溶液 6 μ L,对照品溶液 1 与 2 μ L,分别交叉点于同一薄层板上,按上述条件展开,取出,晾干,扫描,测定斑点吸收度积分值并计算其含量,结果见表 1。

3.9 回收率测定:取已知含量的样品约 10 g,精密称定,分别精密加入丹参酮Ⅱ_A对照品溶液(0.910 mg/mL) 1.0 mL,按含量测定项下方法称定,计算平均回收率为 95.4%, $RSD=2.1\%$ ($n=6$)。

表 1 样品丹参酮Ⅱ_A含量斑点测定结果

批 号	含量(%)	$RSD(\%)$
950704	0.0057	2.8
950705	0.0050	2.1
950801	0.0046	3.3
950802	0.0042	3.0

4 讨论

4.1 由于本品粘度大,基质对测定干扰严重。在薄层鉴别和含量测定时,供试品溶液的提取、分离、纯化是经反复试验、筛选确定的,可以排除基质干扰,测定结果可靠。

4.2 为全面控制本品质量,对其相对体积质量、pH 值、乙醇量和水溶性浸出物进行了测定。

参考文献

1 王宝琴,等. 中成药质量标准与标准物质研究. 北京:中国医药科技出版社,1994:242
2 刘 燕,等. 中国中药杂志,1990,15(3):31
(1998-07-06 收稿)

丹参口服液制备工艺研究

河南省中药研究所(郑州 450004) 蔡中琴 杨亚胜 郑红琴 刘桂霞

丹参系唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根及根茎,具有祛瘀止痛,活血通经,清心除烦的功效。主治月经不调,胸腹刺痛,心绞痛等

病症。基于其活血化瘀和抗菌消炎两大功效,近年来,丹参的各种制剂广泛用于临床多种疾病,但尤以冠心病疗效更为显著。为了完善现有的丹参剂型,我