

至恒重的大黄素对照品 10 mg,置 100 mL量瓶中,加甲醇使溶解,并稀释至刻度,摇匀,即得 0.1 mg / mL的对照溶液 精密吸取对照溶液 1. 0, 2. 0, 3. 0, 4. 0, 5. 0 mL分别置于 25 mL容量瓶中,加 1%醋酸镁甲醇溶液 10 mL,加甲醇至刻度,以甲醇做空白, 510 nm波长处测定吸光度,测定结果见表 1

表 1 不同量的对照溶液吸光值变化

取样量 (mL)	含量 (μg /mL)	吸光值
1. 0	4. 0	0. 164 3
2. 0	8. 0	0. 296 6
3. 0	12. 0	0. 458 7
4. 0	16. 0	0. 602 0
5. 0	20. 0	0. 762 7

大黄素浓度与吸光度关系方程为 $C=26.6015X-0.1532$, $r=0.9995$,线性范围 2.0~40.0 μg/mL

2.2.2 半成品中大黄素的含量测定:从 3批半成品中分别精密称取该品一定量,蒸干,加入适量(约 20 mL)的甲醇使之溶解,再置分液漏斗中,用 30, 20, 10 mL氯仿数次萃取至氯仿层无色,收集氯仿层,回收氯仿,然后用少量甲醇洗涤残渣数次,转移入 100 mL容量瓶中,再加 50 mL 1%醋酸镁甲醇液,再用甲醇定容至刻度,用力摇匀。放置 30 min后,以甲醇作空白对照,于 510 nm处测定吸光度,将吸光度值代入标准曲线计算含量,结果见表 2

表 2 大黄提取物总固体量和大黄素含量

试验号	总固体 (g/100 g生药)	大黄素含量 (μg)	(%)
1	2.271 3	237 307.266 4	10.448
2	2.692 1	285 042.386 7	10.588
3	2.531 5	265 035.353 3	10.469

2.2.3 回收率测定:准确称取该品,蒸干,再准确取 1.1 mg 大黄素对照品加入其中混和,用适量甲醇溶解,后按照上述含量测定方法测定大黄素含量。结果 3批实验平均回收率为 109.39%, $RSD=0.36\%$; 94.60%, $RSD=0.11\%$; 102.97%, $RSD=0.14\%$ 。

2.2.4 精密度、重复性试验:准确称取该品,蒸干,按上述含量测定方法测定吸光度,计算大黄素含量。平行操作 6次,结果 $RSD=1.13\%$;仪器精密密度 $RSD=0.29\%$,表明取样精密度、仪器精密度、重复性良好。

2.2.5 稳定性试验:准确称取该品,蒸干,按含量测定方法测定吸光度。每隔 30 min测定一次,结果 3h内稳定, $RSD=0.13\%$ 。说明大黄成分稳定,在此时间范围内测定误差较小。

从以上对半成品的鉴别和检查认为半成品已经符合配液要求,可用于下一步的配液研究

3 讨论

3.1 此注射液主要用于治疗温热性疾病的初、中期,清热解毒、退高热。其中的游离蒽醌类成分特别是大黄素、大黄酸、芦荟大黄素的药理作用较强,因此可用大黄素含量来代表这类成分的含量

3.2 质量控制用紫外分光光度法进行,方法简便易行,可作为生产单位应用。

参 考 文 献

- 楼之岑.北京医科大学学报,1993,(增刊):2
- 中华人民共和国药典中药薄层色谱色图集.1993:23
- 芦喜珍.中国医院药学杂志,1994,14(8):376
- 徐韧柳,等.中国实验方剂学杂志,1998,4(3):9

(1999-06-25收稿)

四神茶剂制备工艺及质量标准研究

山东医科大学(济南 250012) 张典瑞*

山东中医药大学 张兆旺 孙秀梅

摘 要 四神茶剂为古方四神丸的改进剂型,由肉豆蔻、补骨脂、五味子、吴茱萸、大枣、生姜 6味药组成。改制成茶剂可提高生物利用度,服用方便。本文对制备工艺和质量标准进行了研究

关键词 四神茶 制备工艺 质量标准 剂型改革

四神茶剂为古方四神丸的改进剂型,主要有肉豆蔻、补骨脂、五味子、吴茱萸、大枣、生姜 6味药组成,具有温肾暖脾、涩肠止泻的功能。临床上主要用

于胃肠功能紊乱性疾病,尤其对各种原因不明的慢性腹泻疗效确切。药理研究^[1]表明,四神丸具有抗痉挛、抑制副交感神经过度兴奋和松弛平滑肌的作用,

* Address Zhang Dianrui, Shandong University of Medical Sciences, Jinan

并在治疗肠道易激综合征 (IBS)方面具有良好的效果^[2],具有研究和开发价值。

将四神丸改制成四神茶剂,可以提高其生物利用度,增加溶出,而且服用方便。我们对四神茶剂的制备工艺和质量标准进行了研究。

1 仪器和试剂

DSC-41 差示扫描量热分析仪 (日本岛津公司制造), SP-501N 气相色谱仪 (鲁南化工仪器厂制造), D/max- τ B 型 X 射线衍射仪 (日本理学电机会社制造)。

β -环糊精 (广东郁南味精厂生产), 补骨脂素、五味子乙素和吴茱萸碱对照品 (中国药品生物制品检定所提供), 硅胶 G 和硅胶 GF₂₅₄ (青岛海洋化工厂生产), 其它试剂均为 AR 级。

2 四神茶剂制备工艺

2.1 方药提取: 按处方比例称取一定量的药材, 混合均匀, 按“半仿生提取法”^[3]提取。第一次加一定 pH 的水 10 倍量, 浸 30 min, 双提法提取 2 h, 第二煎、第三煎再加一定 pH 的水 6 倍量, 双提法各提取 1 h。以上 3 次提取液分别过滤, 滤液合并, 减压浓缩至相对体积质量比为 1.25 左右, 低温保存。

2.2 支持剂的制备及配比实验: 上述 3 次提取后的药渣, 置烘箱中 80℃ 烘干, 粉碎, 过筛, 留取 10~20 目粗粉作支持剂。将浸膏和支持剂按不同比例进行配比实验, 可得二者最佳配比。

2.3 挥发油 β -CD 包合物的制备: 采用饱和水溶液法^[4,5]包合。精密称取 β -CD 4 g, 置 100 mL 具塞三角瓶中, 加入蒸馏水 100 mL, 沸水浴加热使溶解, 降至 45℃, 于磁力加热搅拌器恒温搅拌, 用移液管量取挥发油 0.75 mL, 按 3:1 比例用无水乙醇稀释, 然后用 5 mL 注射器将挥发油稀释液缓缓注入保持 45℃ β -CD 溶液中, 加塞, 继续恒温搅拌 2 h。置冰箱冷藏 24 h, 抽滤, 少量水洗 (约 10 mL), 抽干, 收集滤渣, 置干燥器中 12 h, 即得白色粉末状包合物。将所得包合物进行气相分析, X 射线衍射分析和差示扫描量热分析, 可证明包合物确已形成。

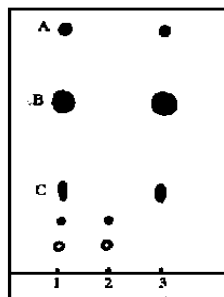
2.4 茶剂的制备: 按所选比例取支持剂吸收浸膏, 混合均匀后, 60℃ 以下干燥, 以 20 目筛整粒, 再加入挥发油 β -CD 包合物, 混合均匀, 包装, 即得。

3 四神茶剂的质量标准

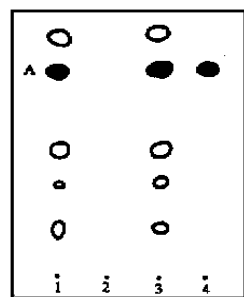
3.1 定性鉴别: 采用薄层色谱法对四神茶剂中主要药物肉豆蔻、补骨脂、五味子、吴茱萸进行了定性鉴别。

称取四神茶 10 g, 研细, 置圆底烧瓶中, 加苯 50

mL 加热回流提取 1 h, 提取液滤过, 回收至 2 mL, 作为样品供试液。另取缺肉豆蔻阴性样品和肉豆蔻阳性样品经同法制成肉豆蔻阴性和阳性对照液。取上述 3 种溶液各 4 μ L 分别点于同一块硅胶 G 薄层板上, 以石油醚 (60℃~90℃) 苯 (1:1) 为展开剂, 上行展开 15 cm, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇液, 105℃ 烘 5 min 至斑点清晰。可见样品供试液色谱中, 在与阳性对照液色谱相应位置上显相同颜色的斑点, 而阴性对照液色谱中无相应的斑点。见图 1。



1 样品 2 阴性对照
3 阳性对照 A 红色
B 棕色 C 红色



1 样品 2 阴性对照
3 阳性对照 4 补骨脂素
A 亮蓝色
B 棕色 C 红色

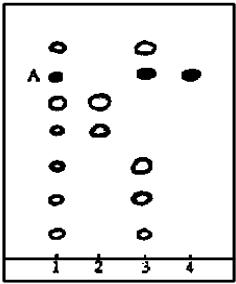
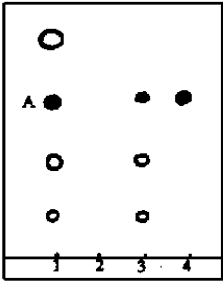
图 1 肉豆蔻的薄层色谱

图 2 补骨脂的薄层色谱

称取四神茶 2 g, 研细, 加甲醇 10 mL, 浸泡 6 h, 时常振摇, 滤过, 滤液浓缩至 2 mL, 作为样品供试液。另取缺补骨脂阴性样品和补骨脂阳性样品经同法制得补骨脂阴性和阳性对照液。补骨脂素标准品对照液为 0.8 mg/mL 的甲醇溶液。取上述 4 种溶液各 4 μ L, 分别点于同一块 0.5% CMC-Na 硅胶 G 薄层板上, 以苯-乙酸乙酯 (9.5:0.5) 为展开剂, 上行展开 15 cm, 取出, 晾干, 于 UV 365 nm 下观察。可见样品供试液色谱中, 在与阳性对照液和标准品对照液色谱相应位置上显相同颜色的斑点, 而阴性对照液色谱中无相应的斑点。见图 2。

称取四神茶 2 g, 研细, 置圆底烧瓶中, 加氯仿 10 mL 加热回流提取 1 h, 提取液滤过, 回收溶剂至 2 mL, 作为样品供试液。另取缺吴茱萸阴性样品和吴茱萸阳性样品经同法制得吴茱萸阴性和阳性对照液。吴茱萸碱标准品对照液为 0.56 mg/mL 的氯仿溶液。取上述 4 种溶液各 6 μ L, 点于同一块 0.5% CMC-Na 硅胶 GF₂₅₄ 薄层上, 以石油醚-氯仿-甲醇 (4:24:0.5) 为展开剂, 上行展开 15 cm, 取出, 晾干, 于 UV 254 nm 下观察。可见样品供试液色谱中, 在与阳性对照液和标准品对照液色谱相应位置上显相同颜色的斑点, 而阴性对照液色谱中无相应的斑

点。见图 3



1样品 2阴性对照 3阳性对照 4吴茱萸碱 A褐色
图 3 吴茱萸薄层色谱

1样品 2阴性对照 3阳性对照 4五味子乙素 A褐色
图 4 五味子薄层色谱

称取四神茶 2 g,研细,加甲醇 10 mL,放置 12 h,时常振摇,滤过,滤液浓缩至 2 mL,作为样品供试液。另取缺五味子阴性样品和五味子阳性样品经同法制得五味子阴性和阳性对照液。五味子乙素对照液为 0.83 mg/mL 甲醇溶液。取上述 4 种溶液各 4 μ L,点于同一块 0.5% CMC-Na 硅胶 G F₂₅₄ 薄层板上,以石油醚-乙酸乙酯 (15:5) 为展开剂,上行展开,取出,晾干,于 UV 254 nm 下观察。可见样品供试液色谱中,在与五味子阳性对照液和五味子乙素标准品对照液色谱相应位置上显相同颜色的斑点,而阴性对照色谱无相应的斑点。据此可证明本品中含有五味子。见图 4

3.2 补骨脂素的含量测定:薄层层析条件:以苯-乙酸乙酯 (9.5:0.5) 为展开剂,用 0.5% CMC-Na 硅胶 G 板展开,补骨脂素与其它组分能较好地分离。

薄层扫描条件:扫描方式为单波长反射式锯齿扫描,扫描波长为 310 nm,狭缝 1.2 mm $\times$ 1.2 mm, S_x= 3,灵敏度中。

标准曲线的制备:精密称取补骨脂素 1.60 mg,置 2 mL 容量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度。精密吸取上述溶液 2, 4, 6, 8, 10 μ L 点于 0.5% CMC-Na 硅胶 G 薄层板上,按上述条件测定峰面积,并计算得回归方程 $y = 18\,369.24 + 74\,521.41x$, $r = 0.999\,5$ 。结果表明,补骨脂素在 1.6~ 8 μ g 范围内具有良好的线性关系。

稳定性实验:精密吸取上述对照品溶液,按上述

条件测定峰面积。结果表明,补骨脂素在 4.5 h 内稳定。

精密度实验:对同一斑点连续扫描 5 次,峰面积积分值的 RSD 为 0.72%,同板峰面积的 RSD 为 0.89%,异板峰面积的 RSD 为 2.24%。

加样回收率实验:5 次平均回收率为 98.96%, RSD 为 1.57%。

样品的含量测定:精密称取四神茶剂 5 g,研匀,用甲醇为溶剂索氏提取 6 h,提取液回收溶剂后,定容于 50 mL 容量瓶中,得样品供试液。用定量毛细管精密吸取样品供试液 6 μ L,点于 0.5% CMC-Na-硅胶 G 板上,按上述条件展开,扫描测定其含量,结果见表 1,其 95% 置信区间为 0.25~ 0.261 mg/g。

表 1 四神茶剂补骨脂素含量

批号	测得值 (mg/g)			$\bar{x} \pm s$ (mg/g)	RSD (%)
1	0.254	0.268	0.246	0.256 $\pm$ 0.01	3.91
	0.248	0.264			
2	0.261	0.254	0.267	0.260 $\pm$ 0.009	3.46
	0.249	0.271			
3	0.244	0.253	0.259	0.251 $\pm$ 0.006	2.39
	0.248	0.247			

4 讨论

4.1 本茶剂制备工艺中,以药渣粗粉作支持剂,既不同于目前市售的全生药型的袋泡茶,又不同于半生药型袋泡茶,其释药速度快,生物利用度高,生产成本低,能够即泡即饮。

4.2 本制剂的另一特点是采用半仿生提取法提取,能较好地体现中医治病的特点,充分发挥混合成分的综合作用。

4.3 本制剂对其主要组成药物进行了薄层鉴别,并对其主要成分补骨脂素进行了含量测定,方法简单,方便可行,结果准确可靠,能有效控制制剂质量。

参 考 文 献

1 胡稳恒,等. 中成药研究, 1981, (9): 31
2 张迪. 黑龙江中医药, 1986, (6): 23
3 张兆旺,等. 中国中药杂志, 1995, 20(11): 670
4 奚念朱,等. 药剂学. 北京: 人民卫生出版社, 1990 157
5 谢秀琼,等. 中药新制剂开发与应用. 北京: 人民卫生出版社, 1994 74

(1999-04-15 收稿)

欢迎投稿 欢迎订阅