

妇月康胶囊质量标准定性定量方法的研究

The Quantitative and Qualitative Analysis of the Quality of Fuyuekang Jiaonang

陆国寿, 黄海莲, 思良, 刘元

Lu Guoshou, Huang Hailian, Si Liang, Liu Yuan

(广西中医药研究所, 广西南宁 530022)

(Guangxi Institute of Traditional Medical and Pharmaceutical Sciences, Nanning, Guangxi, 530022, China)

摘要: 为了有效地控制妇月康胶囊的质量, 针对妇月康胶囊现行质量标准中的不足, 改进了对当归、川芎中阿魏酸的薄层鉴别方法, 增加了对处方中益母草的薄层鉴别方法, 并用剩余比色法测定益母草中盐酸水苏碱的含量, 以间接测定益母草的含量。结果表明, 改进后的当归、川芎中阿魏酸的薄层鉴别方法和益母草的薄层鉴别方法, 操作简单易行, 重现性好, 专属性强。用剩余比色法测定益母草中盐酸水苏碱的含量的平均回收率为 99.8%, *RSD* 为 0.94%。该方法稳定, 可用于妇月康胶囊的质量检测。

关键词: 妇月康胶囊 质量标准 益母草 当归 川芎

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 1005-9164(2005)04-0320-03

Abstract Our purpose is to control the quality of Fuyuekang Jiaonang, to improve the method of identify Ferulic acid of angelica and chuanxiong, to increase the method to identify Herba leonuri by TLC. The content of Stachydrine hydrochloride were determined by Reinecke salt surplus colorimetry method. It is founded that using TLCs to identify Herba leonuri, angelica, chuanxiong were simple, sensitive and accurate. The average recovery was 99.8% (*RSD* = 0.94%). This method is stable and reliable.

Key words Fuyuekang Jiaonang, quality standard, herba leonuri, angelica, chuanxiong

妇月康胶囊处方由当归、川芎、红花、桃仁、徐长卿等 8 味药组成, 具有活血、祛瘀、止痛等功效, 用于产后恶露不停, 少腹疼痛等症^[1]。现行妇月康胶囊质量标准中仅有理化鉴别和生物碱反应及阿魏酸的薄层鉴别^[1], 专属性差。在进行新药开发研究工作中, 为了更准确地、有效地控制妇月康胶囊的质量, 我们对处方中当归、川芎中阿魏酸的薄层鉴别方法进行改进, 增加对处方中益母草的薄层鉴别方法, 并用剩余比色法^[2]测定益母草中盐酸水苏碱的含量, 间接地测定出益母草的含量。

1 仪器、试剂与样品

72 光栅分光光度计 (上海精密科学仪器有限公司生产), B2200S-T 型超声波清洗器 (上海必能信超声有限公司生产)。所用试剂均为分析纯。盐酸水苏碱

对照品 (批号: 110712-200306)、阿魏酸对照品 (批号: 110773-9910)、当归对照药材 (批号: 120927-200310)、川芎对照药材 (批号: 120918-200406) 和益母草对照药材 (批号: 120912-200306) 均由中国药品生物制品鉴定所提供。妇月康胶囊样品 3 批 (批号为: 030814 030815 030816)、缺当归、川芎、益母草阴性样品和缺益母草阴性样品均由桂林莱茵药业有限公司生产提供。

2 薄层色谱法定性鉴别

2.1 当归、川芎中阿魏酸的薄层鉴别方法改进

2.1.1 对照品溶液的制备

取阿魏酸对照品加甲醇制成 1mg/ml 的溶液, 作为对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备

取妇月康胶囊内容物 3g, 加甲醇 30ml, 加热回流 20min, 放冷, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加蒸馏水 20ml 溶解, 以乙酸乙酯提取 3 次, 每次 20ml, 合并提取液, 蒸干, 残渣加蒸馏水 20ml 溶解, 用乙醚提取 3 次, 每次

收稿日期: 2005-03-24

修回日期: 2005-10-16

作者简介: 陆国寿 (1980-), 男, 广西象州人, 实习研究员, 主要从事新药开发和质量标准研究工作

20ml,合并乙醚液,蒸干,残渣加甲醇 1ml使其溶解,作为供试品溶液。每个批号妇月康胶囊各制成 1份供试品溶液

2.1.3 当归、川芎对照药材溶液的制备

取当归对照药材 3g,川芎对照药材 2g,分别按供试品溶液的制备方法制得相应对照药材溶液

2.1.4 阴性对照溶液

取缺当归、川芎、益母草的阴性样品 3g,按供试品溶液提取方法制成阴性对照溶液。

2.1.5 薄层条件

吸取上述溶液各 10 μ l,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G薄层板上,以甲苯:乙酸乙酯:甲酸(6:3:5:0.5)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 2% 铁氰化钾-2% 三氯化铁试液(取铁氰化钾 2g,三氯化铁 2g,各溶于 50% 乙醇溶液 100ml中,临时时按 1: 配制而成),图谱显示如图 1所示。供试品色谱中,在与对照药材和对照品色谱相应的位置上,显相同的颜色斑点,阴性无干扰。

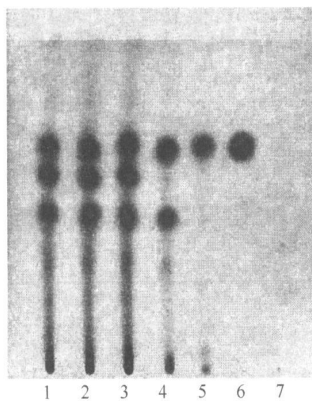


图 1 阿魏酸的 TLC图谱

Fig. 1 TLC chromatogram of Ferulic acid

1. 供试品 1; 2. 供试品 2; 3. 供试品 3; 4. 川芎对照药材; 5. 当归对照药材; 6. 阿魏酸对照品; 7. 阴性对照。

1. Sample 1; 2. Sample 2; 3. Sample 3; 4. Chuanxiong; 5. Angelica; 6. Ferulic acid; 7. Negative control.

2.2 益母草薄层鉴别

2.2.1 对照品溶液的制备

取盐酸水苏碱对照品加无水乙醇制成 2mg/ml 的溶液,作为对照品溶液

2.2.2 供试品溶液的制备

取妇月康胶囊内容物 3g,加无水乙醇 50ml,超声提取 30min,放冷,滤过,滤液蒸干,加入 0.1mol/L 盐酸溶液 10ml溶解,加活性炭 0.5g,置水浴上加热 3min,边加热边搅拌,滤过,再用 0.1mol/L 盐酸溶液 5ml分次洗涤烧杯和滤器,滤液、洗涤液合并蒸干,残渣加无水乙醇 0.5ml使溶解,作为供试品溶液。3个批号妇月康胶囊各制成 1份供试品溶液。

2.2.3 益母草对照药材溶液的制备

取益母草对照药材 5g,加水 50ml煎煮 2h,滤过,滤液浓缩至 1ml,加无水乙醇 30ml,按 2.2.2中“超声提取 30min”起的制备方法,制得对照药材溶液

2.2.4 阴性对照溶液

取缺益母草阴性样品 3g,按 2.2.2中供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。

2.2.5 薄层条件

吸取上述溶液各 10 μ l,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G薄层板上,以正丁醇:盐酸:水(8:2:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以稀碘化铋钾试液,图谱显示如图 2所示。供试品色谱中,在与对照药材和对照品色谱相应的位置上,显相同的颜色斑点,阴性无干扰

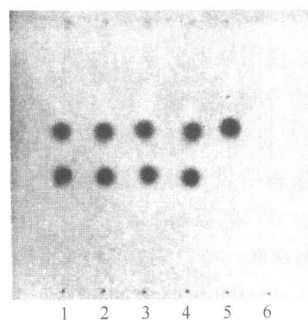


图 2 益母草的 TLC图谱

Fig. 2 TLC chromatogram of Herba Leonuri

1. 供试品 1; 2. 供试品 2; 3. 供试品 3; 4. 益母草对照药材; 5. 盐酸水苏碱对照品; 6. 阴性对照。

1. Sample 1; 2. Sample 2; 3. Sample 3; 4. Herba Leonuri; 5. Stachydrine hydrochloride; 6. Negative control.

2.3 盐酸水苏碱含量测定

2.3.1 对照品溶液的制备

精密称取温度在 105 $^{\circ}$ C下干燥至恒重的盐酸水苏碱对照品 50mg,置 50ml容量瓶中,加 0.1mol/L 盐酸溶液使其溶解并稀释至刻度,摇匀,制成 1mg/ml 对照品溶液。

2.3.2 线性关系考察

精密量取对照品溶液 2.0ml 4.0ml 6.0ml 8.0ml 10.0ml置 10ml量瓶中,分别加 0.1mol/L 盐酸至刻度,摇匀,然后将对照品溶液分别置烧杯中,各加活性炭 0.5g,置沸水浴上加热 3min,边加热边搅拌,放冷后过滤至 25ml容量瓶中,用 0.1mol/L 盐酸液 10ml分别洗涤烧杯和滤器,洗涤液分别并入同一量瓶中;另取 0.1mol/L 盐酸溶液 20ml,置另一个 25ml容量瓶中,然后各加入新配制的 2% 硫氰酸铬铵溶液 3ml,摇匀,再加 0.1mol/L 盐酸溶液稀释至刻度,置冰浴中放置 1h,用干燥滤纸滤过,弃去初滤液,取续滤液,以 0.1mol/L 盐酸溶液为空白调零,在 520nm 波长

处分别测定吸收度,用空白试液的吸收度分别减去对照品的吸收度,以吸收度的差值 (ΔA) 为纵坐标,对照品浓度 (C) 为横坐标,得回归方程为 $\Delta A = 0.3852C - 0.0014$, $r = 0.9992$ 表明对照品浓度在 $0.0805 \sim 0.4024 \text{mg/ml}$ 浓度范围内,对照品浓度与其吸收度的差值呈良好的线形关系

2.3.3 测定法

取妇月康胶囊内容物适量,研匀,精密称取 1g,置 100ml 具塞锥形瓶中,加入 95% 乙醇 50ml,超声提取 30min,放冷,滤过,提取液置烧杯中,置水浴上蒸干,加入 0.1mol/L 盐酸溶液 10ml 使其溶解,即得供试品溶液。照 2.3.2 中自“各加活性炭 0.5g”起依法测定供试品溶液吸收度。照公式 $C_{\text{样}} = \frac{\Delta A_{\text{样}}}{\Delta A_{\text{标}}} \cdot C_{\text{标}}$ 计算样品浓度。取缺益母草阴性样品,按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液,依法测定。结果 $\frac{\Delta A_{\text{样}}}{\Delta A_{\text{标}}} \times 100\% < 1\%$,说明缺益母草阴性对照溶液无干扰

2.3.4 稳定性实验

取对照品及供试品溶液,每隔一定时间分别测定其吸收度,结果表明供试品溶液在 1.5h 内保持稳定,详见表 2

表 2 稳定性试验结果

Table 2 Results of stability experiment

序号 No.	对照品 Comparison	供试品 Sample	序号 No.	对照品 Comparison	供试品 Sample
1	0.568	0.544	4	0.570	0.544
2	0.568	0.545	5	0.569	0.546
3	0.371	0.544			

2.3.5 精密度实验

分别精密吸取盐酸水苏碱对照品溶液及供试品溶液各 5 份,测定其吸收度,测定结果表明精密度较好,详见表 3

表 3 精密度试验结果

Table 3 Results of accuracy experiment

序号 No.	对照品 Comparison	供试品 Sample	序号 No.	对照品 Comparison	供试品 Sample
1	0.570	0.544	5	0.569	0.545
2	0.568	0.545	平均值	0.569	0.545
3	0.571	0.545	RSD (%)	0.20	0.91
4	0.569	0.544			

2.3.6 重现性实验

取同一批号的妇月康胶囊 (030814) 供试品共 5 份,每份约 1g,精密称定,按 2.3.3 中的方法进行提取,测定。结果测得平均含量 4.417 毫克/粒, $RSD = 0.74\%$,重现性较好。

2.3.7 加样回收实验

取已测知含量的供试品 (含量 4.417 毫克/粒,平均粒重 0.6092 克/粒) 6 份,每份约 0.70g,精密称定,置 100ml 具塞锥形瓶中,加入 1.002mg/ml 盐酸水苏碱

对照品溶液 4.0ml 4.0ml 4.5ml 4.5ml 5.0ml 5.0ml,按 2.3.3 中自“加入 95% 乙醇 50ml”起的方法进行提取并测定,结果见表 4 结果表明,该方法回收率在 98.6% ~ 101.1%,平均回收率为 99.8%, RSD 为 0.94%,说明该方法稳定,可行。

表 4 加样回收试验结果

Table 4 Results of recovery rate experiment

序号 No.	样品含量 Concent (mg)	加入量 Added (mg)	实测量 Found (mg)	回收率 Recovery (%)
1	5.106	4.008	9.134	100.5
2	5.102	4.008	9.053	98.6
3	5.089	4.509	9.548	98.9
4	5.098	4.509	9.656	101.1
5	5.098	5.010	10.09	99.8
6	5.100	5.010	10.09	99.6

2.3.8 样品测定

对 3 批妇月康胶囊样品平行测定 3 次,3 批样品中阿魏酸含量在 4.424 ~ 4.546 毫克/粒之间,每批样品测定结果的平均相对偏差均 $< 1.0\%$,说明该方法稳定可行,可用来对妇月康胶囊进行定量控制。结果见表 5

表 5 样品含量测定结果 ($n=3$)

Table 5 Results of sample determination

批号 Batch sample	含量 Concent (毫克/粒)			平均含量 Average concent	平均相对偏差 Relative average deviation (%)
	1	2	3		
030814	4.541	4.546	4.551	4.546	0.10
030815	4.429	4.510	4.475	4.471	0.90
030816	4.436	4.408	4.427	4.424	0.32

3 结束语

妇月康胶囊原标准中有阿魏酸的薄层鉴别是在酸性条件下用苯洗,苯液弃去,再用乙醚提取。阿魏酸溶于苯液中,苯洗并将苯液弃去会将部分阿魏酸除去,可能会导致无法检出阿魏酸^[2],故现行标准的鉴别方法存在不稳定性。益母草中存在一种阿魏酸成分^[3,4],所以我们在制备阴性对照溶液时,将当归、川芎、益母草同时除去。改进后的方法较原方法操作简单易行,重现性好。

我们用薄层色谱法对益母草鉴别研究时,曾对用活性炭脱色与不用活性炭脱色进行比较,不用活性炭脱色所得供试液含有杂质较多,展开时杂质斑点影响盐酸水苏碱斑点上移,选用活性炭脱色后供试液澄清,展开时杂质斑点少,故采用活性炭脱色。

用雷氏盐剩余比色法测定制剂中盐酸水苏碱的含量时发现,硫氰酸铬铵在水中溶解度较小,配制的 2% 硫氰酸铬铵溶液有时溶解不完全,存在不溶的硫

(下转第 326 页 Continue on page 326)

较为显著 ($r = 0.01$),与 TN 之间只具有明显的正相关趋势 ($r < 0.05$),而与 PN 和 DON 之间则没有相关性。显然,悬浮颗粒物只对溶解态氮和无机氮具有重大贡献作用。对于不同形态磷而言,则以与 TP 的正相关关系较为显著 ($r = 0.01$),与 DTP 和 DOP 的相关性次之 ($r = 0.05$),与 DIP 的相关性最差,而且呈现出负相关的倾向。表明由悬浮颗粒物携带入海的磷是以总磷为主,其中溶解态磷所占比例大于颗粒态磷,而在溶解态磷中又以有机磷占主导地位。对于溶解性硅而言,虽然与悬浮颗粒物之间的相关性并不显著,但正相关趋势却极为明显,说明来自悬浮颗粒物携带的硅含量在水体中占有一定的比例。

夏季是本海域雨量最为充沛,径流量最大的季节,由于氮、磷、硅营养盐的来源较广,它们与悬浮颗粒物之间的相关性春季相比存在明显的差异。在与不同形态氮的相关关系中,以与 TN 的正相关性较为显著 ($r = 0.01$),其中 DTN 表现为显著正相关 ($r = 0.01$),PN 表现为良好正相关 ($r = 0.05$);在 DTN 中,则以 DIN 的正相关性较为显著 ($r = 0.01$),DON 与悬浮颗粒物之间只具有明显正相关趋势。但总的说来,本季度月各态氮与悬浮颗粒物之间除 DON 外置信水平均在 95% 以上。这一方面说明本季度月的悬浮颗粒物对来源不一的各态氮的吸附—解吸具有相对均等作用;另一方面,则说明由陆源携带入海的不同形态氮多以悬浮颗粒的形式入海并参与了水体中的物理、化学和生物过程,对本湾氮源的供应具有重大影响。对于不同形态磷与悬浮颗粒物之间的关系,除 PP 呈显著正相关 ($r = 0.01$) 外,其余形态磷均不相关,而且除 TP 的正相关趋势较为明显外,其余的溶解态磷均表现出负相关趋势,说明本季度月悬浮颗粒物携带的磷其解吸作用主要以颗粒态为主,而对溶解态磷则主要以吸附过程为主。悬浮颗粒物与溶解性硅的良好正相关关系,则表明该季度月的悬浮颗粒物在硅的补充过程中起了重大作用。

(上接第 322 页 Continue from page 322)

氰酸铬铵,因此 2% 硫氰酸铬铵溶液应过滤后使用。加样回收实验表明,该方法回收率在 98.6% ~ 101.1%,平均回收率为 99.8%,RSD 为 0.94%,证明该方法稳定,可行。

按本实验方法对妇月康胶囊标准改进和提高后,能将该制剂质量控制方法得到完善和提高,有利于进一步控制妇月康胶囊的药品质量。

参考文献:

[1] WS-B-2890-98. 妇月康胶囊 [S].

3 结束语

(1) 北海湾水体中的悬浮颗粒物具有春季较高,秋季次之,冬夏季较低的分布特点,其中春、夏季以河流输入的物理过程影响为主,秋季以河水与潮汐的相互作用影响为主,冬季则以风海流的影响占主导地位。

(2) 悬浮颗粒物与基本环境因子之间具有密切的关系,但随季节变化差异甚大,在陆源影响较小的秋冬季节,它们之间的相关性均不显著,但在陆源影响较大的春夏季节却表现出显著的相关性,其中以与盐度、透明度的负相关性及其与 COD 的正相关性较为显著,与水温 and 叶绿素 a 的相关性次之,与 pH 值的相关性较差。

(3) 在陆源输送影响较小的秋冬季节,悬浮颗粒物与营养盐之间的相关性均不显著,但在陆源输送影响较大的春夏季节,悬浮颗粒物与营养盐之间不仅关系显著,而且在形态上具有明显的变化,对氮而言,无论春季还是夏季,悬浮颗粒物对溶解态氮及无机氮均具有重大贡献作用。而对磷而言,春季以总磷—溶解态磷—有机磷为主;夏季则以颗粒态磷为主。

参考文献:

[1] 杨维荣,于 岚,张晓瑞.环境化学 [M].北京:高等教育出版社,1991.56-58.
[2] P C 海德 [英].实用河口化学手册 [M].北京:海洋出版社,1991.12-17.
[3] 李飞永,陈金斯.珠江口海区悬浮颗粒物研究 [J].海洋学报,1989,11(2):185-192.
[4] 李道季,李 军,陈吉余.长江河口悬浮颗粒物研究 [J].海洋与湖沼,2000,31(3):295-301.
[5] GB17378.4-1998.海洋监测规范 [S].

(责任编辑:韦廷宗 邓大玉)

[2] 赵春香,章贵杰.产复康冲剂部标准鉴别项下存在的问题及改进 [J].中成药,1996,18(11):15-16.
[3] 罗 毅,罗顺德.益母草煎液中一种类阿魏酸成分的色谱鉴别 [J].中药材,2002,25(10):713-714.
[4] 秦雪梅,郝旭亮.益母草中阿魏酸的色谱鉴别 [J].中草药,2001,32(5):447-449.

(责任编辑:韦廷宗 邓大玉)