

胃爽颗粒制备工艺及质量标准研究

赫光中,王 强

(咸阳职业技术学院医学系,陕西 咸阳 712000)

[摘要] 目的:制定胃爽颗粒的制备工艺及质量标准。方法:采用薄层色谱法对胃爽颗粒进行定性鉴别,采用高效液相色谱法测定胃爽颗粒中的主要成分丹酚酸B的含量。结果:薄层色谱能有效鉴别出方中主要药物麦冬、吴茱萸、党参,以丹酚酸B为含量测定成分,可以较好地控制该制剂的质量。结论:采用色谱法测定胃爽颗粒中的主要成分制备工艺简便可行。

[关键词] 胃爽颗粒;薄层色谱法;高效液相色谱法;制备工艺;质量标准

[中图分类号] R284.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-659X(2011)01-0075-03

胃爽颗粒原方是治疗慢性胃炎的有效方剂,具有温中散寒、活血化瘀、行气止痛的作用,主要由吴茱萸、党参、丹参、郁金、鸡内金、麦冬、白屈菜组成。药理研究表明,胃爽颗粒能调节胃肠激素的紊乱、消除胃黏膜炎症、改善肠上皮化生及不典型增生等。由于汤剂口服剂量大,服用疗程长,且贮存、携带不便,我们拟汤剂改为颗粒剂以克服上述缺点,将其工艺及质量标准研究报道如下。

1 仪器和试剂

SP-8810型高效液相色谱仪(美国光谱物理公司),浙江大学N2000工作站;紫外分光光度计UV-2401 PC(日本岛津公司);光电分析天平TG328B(上海天平仪器厂);JA2003N电子天平(上海精密科学仪器有限公司);丹酚酸B对照品,由中国药品生物制品检定所购入(供含量测定用,批号:111562-200403),乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。硅胶G。

2 制备工艺

白屈菜制备根据文献[1],加6倍量80%乙醇,加热回流提取两次,每次2h。其余6味药加水煎煮3次,第一次浸泡1.5h,加8倍量水,提取1.5h;第二次和第三次分别加6倍量水,分别提取1h。滤过,合并滤液,浓缩至相对密度为1.33(60℃),真空干燥,合并浸膏粉,粉碎,过五号筛。按比例加入适量糊精、甜菊糖,混匀,制粒,减压干燥,整粒,制成1000g,即得。

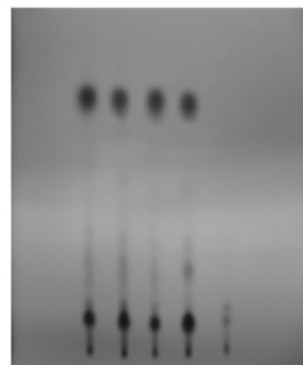
3 质量控制

3.1 名称及性状 根据功能主治为主的命名原则规定,本制剂取名胃爽颗粒;性状为深棕色颗粒或

粉末,味苦,微甜。

3.2 定性鉴别 采用薄层色谱法对胃爽颗粒中主要药物麦冬、吴茱萸、党参进行定性鉴别。

3.2.1 麦冬定性鉴别 取本品10g,加盐酸1ml,氯仿30ml,置水浴上回流30min,分取氯仿层,用水20ml洗涤1次,弃去水液,氯仿液浓缩至1ml,作为供试品溶液。另取麦冬对照药材1g,同法制成对照药材溶液。另取按原方除去麦冬药材后制成的不含麦冬的阴性对照制剂,同法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2000年版一部附录VIB)试验,吸取上述样品溶液5μl,药材溶液3μl,阴性溶液各5μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以甲苯-甲醇-冰醋酸(80:5:0.1)为展开剂,展开,取出,凉干,喷以10%硫酸乙醇溶液,在105℃烘约5~10min。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位置上,显相同颜色的斑点。阴性对照试验未见干扰,方法稳定可靠。见图1。



1 2 3 4 5

1:麦冬对照药材,2~4:供试品,5:阴性对照

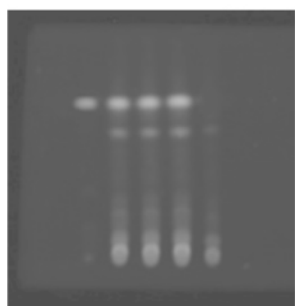
图1 麦冬薄层色谱

3.2.2 吴茱萸定性鉴别 取本品10g,加甲醇50ml,超声处理30min,滤过,滤液烘干,残渣加水10ml

[收稿日期] 2010-06-07

[作者简介] 赫光中(1960-),男,陕西吴起人,副教授,主要从事临床医学教学研究。

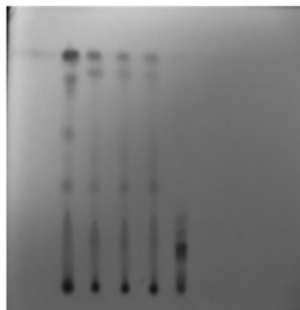
使溶解,加盐酸调 pH=1,滤过,滤液加浓氨水调 pH=9,转移至分液漏斗中。以氯仿提取 3 次,每次 20 ml,合并氯仿液,水浴蒸干,残渣加甲醇 2 ml 使溶解,作为供试品溶液。精密称取吴茱萸次碱对照品,加甲醇制成每毫升含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。另取按原方除去吴茱萸药材后制成的不含吴茱萸的阴性对照制剂,同供试品法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2000 年版一部附录 VIB)试验,吸取上述溶液各 5 μ l,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 GF254 薄层板上,以环己烷-氯仿-甲醇(8:4:1)为展开剂,浓氨水饱和 15 min 后,展开,取出,晾干,置紫外光灯(254 nm)下检视。见图 2。



1:吴茱萸次碱,2~4:供试品,5:阴性对照

图 2 吴茱萸薄层色谱

3.2.3 党参定性鉴别 取本品 10 g,加氯仿 50 ml,超声提取 30 min,滤过,滤液浓缩至 1 ml,作为供试液。取党参对照药材 1 g,加氯仿 10 ml,同法制成对照药材溶液。另取按原方除去党参药材后制成的不含党参的阴性对照制剂,同法制成阴性对照溶液。吸取上述 3 种溶液各 10 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以苯-丙酮(9:1)为展开剂,展开,取出,凉干,喷以 20%高氯酸溶液,105 $^{\circ}$ C 烘约 5 min。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色斑点,而阴性对照无相应斑点。见图 3。



1:党参对照药材,2~4:供试品,5:阴性对照

图 3 党参薄层色谱

3.3 定量鉴别 选用方中主药丹参的有效成分丹酚酸 B 来控制胃爽颗粒的质量,采用 HPLC 法进行

含量测定。

3.3.1 色谱条件 色谱柱 Diamonsil(5 μ m,250 mm $\times$ 4.6 mm),流动相:乙腈-甲醇-甲酸-水(10:27:1:65),检测波长:286 nm,柱温:室温,流速:1 ml/min。在此条件下,丹酚酸 B 峰分离较好,丹酚酸 B 的理论塔板数为 3 500,而阴性无干扰。

3.3.2 对照品溶液的制备 精密称取丹酚酸 B 对照品适量,置棕色量瓶中,加 75%甲醇制成每毫升含 80 μ g 的溶液,即得。10 $^{\circ}$ C 以下保存。

3.3.3 供试品溶液的制备 经反复试验,最终确定含量测定供试品溶液的制备方法为:取本品适量,研细,取约 0.2 g,精密称定,置于 50 ml 量瓶中,加入流动相 40 ml,超声提取 30 min,取出,放冷后用流动相定容,滤过,取滤液,即得。

3.3.4 标准曲线及线性范围考察 由于采用了与工艺中相同的色谱条件,分离度较好,进样量均在线性范围内,故标准曲线及线性范围同工艺,即 $Y=53041X+522$,相关系数 $r=0.9999$,线性范围为 0.16~0.80 μ g。

3.3.5 精密度试验 取供试品溶液,连续进样 5 次(各 10 μ l),分别测定丹酚酸 B 峰面积积分值,结果其 RSD 为 1.21%。

3.3.6 重复性试验 取同一批号的样品(批号:100303)5 份,照供试品溶液制备方法制备供试品溶液,分别取 10 μ l 进样,在上述色谱条件下分别测定,计算样品中的含量,5 次测定结果平均值为 8.9106 mg/g,RSD 为 1.69%。

3.3.7 稳定性试验 取同一供试品溶液,每间隔一定时间测定一次,于不同时间测定峰面积,每次进样 10 μ l,分别测定丹酚酸 B 峰面积积分值,结果其 RSD 为 1.42%。

3.3.8 回收率试验 采用加样回收率法,取已知含量的样品(批号:100303,8.91 mg/g)5 份,分别加入适量丹酚酸 B 对照品,照供试品溶液的制备方法制备供试品溶液,按上述色谱条件及测定方法进行测定,按下面的公式计算回收率结果。见表 1。

$$\text{回收率}(\%) = \frac{\text{测得丹酚酸 B 量} - \text{样品中丹酚酸 B 量}}{\text{加入丹酚酸 B 的量}} \times 100\%$$

结果表明:本方法加样回收率良好。

3.3.8 样品含量测定 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μ l,注入液相色谱仪中进行测定,结果见表 2。

4 讨论

4.1 水浸出物反映了该制剂的整体疗效,而丹酚酸 B 具有较强的药理活性,且含量较高,故选用其作为提取工艺的考察指标。 $L_9(3^4)$ 正交试验采用综合评分(水浸出物的权重系数为 0.4,丹酚酸 B 的权重系

表 1 回收率试验结果

编号	取样量 (m/g)	相当于丹酚酸 B 的量 (m/mg)	加入丹酚酸 B 的量 (m/mg)	测得丹酚酸 B 量 (m/mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.4923	4.3864	2.4672	6.8469	99.73	98.92	1.56
2	0.5438	4.8453	2.8213	7.6227	98.45		
3	0.5321	4.7410	2.9134	7.5498	96.41		
4	0.5205	4.6377	2.4658	7.0994	99.84		
5	0.5102	4.5459	2.8219	7.3723	100.16		

结果表明:本方法加样回收率良好。

表 2 样品测定结果(n=3)

批号	含量 (m/mg·g ⁻¹)	RSD(%)
100301	8.77	1.08
100302	8.95	0.98
100303	8.91	1.87

数为 0.6),较客观地反映了胃爽颗粒的临床药效。

4.2 先后尝试了丹参、郁金、鸡内金、白屈菜、党参、麦冬、吴茱萸的薄层鉴别,丹参的薄层鉴别以原儿茶醛为对照品,阴性有干扰,故不予以采用。郁金、鸡内金、白屈菜都以对照药材为对照,供试相应位

置未见斑点。党参、麦冬以对照药材为对照,主斑点基本一致,且阴性无干扰,故收入质量标准。吴茱萸以吴茱萸次碱对照品为对照,供试在与对照品相应的位置,有相同颜色的荧光斑点,且阴性无干扰,故予以采纳。

4.3 以丹酚酸 B 为含量测定的成分,阴性无干扰,专属性强,精密度、稳定性、重现性良好,回收率符合规定,可以很好地控制该制剂的质量。供试品制备进行了提取时间、提取溶剂的考察,优选出了较合理的制备方法,用流动相超声处理 30 min 即可。

[参考文献]

[1] 刘拉. 白屈菜提取工艺的初步研究[J]. 广东微量元素科学, 2001,8(7):55-58.

(上接第 74 页)

本实验行为学检测提示,补肾健脾方可显著改善 AD 模型大鼠的学习和记忆能力,其中大剂量干预组的平均逃避潜伏期短于小剂量组,但大小剂量组在减少 GSK-3 β 的表达及血清胰岛素水平方面无显著性差异,提示除血清胰岛素及 GSK-3 β 外,补肾健脾方还可通过其他生理途径改善 AD 模型大鼠的学习和记忆能力,有待进一步研究。

[参考文献]

[1] Ali A,Hoeflich KP,Woodgett JR. Glycogen synthase kinase-3: properties,functions,and regulation[J]. Chem Rev,2001,101(8): 2527-2540.
[2] Armstrong JL,Bonavaud SM,Toole BJ,et al. Regulation of glycogen synthesis by amino acids in cultured human muscle[J]. Cells J Biol Chem,2001,276(2):952-956.
[3] Amit S,Hatzubai A,Birman Y,et al. Axin-mediated CKI phosphorylation of beta-catenin at Ser 45:a molecular switch for the Wnt pathway[J]. Genes Dev,2002,16(9):1066-1076.
[4] Sun W,Qureshi HY,Cafferty PW,et al. Glycogen synthase kinase-3b is complexed with Tau protein in brain microtubules[J]. J Biol Chem,2002,277(14):11933-11940.
[5] Agarwal-Mawal A,Qureshi HY,Cafferty PW,et al. Connects glycogen synthase kinase-3 β to Tau within a brain microtubule-associated Tau phosphorylation complex[J]. J Biol Chem,2003, 278(15):12722-12728.

neurotoxicity is reduced by inhibition of glycogen synthase kinase-3[J]. Brain Res,2008,118(8):254-262.
[7] Grimes CA,Jope RS. The multifaceted roles of glycogen synthase kinase 3beta in cellular signaling[J]. Prog Neurobiol,2001, 65(4):391-426.
[8] X Li,F Lu,Q Tian,et al. Activation of glycogen synthase kinase-3 induces Alzheimer-like tau hyperphosphorylation in rat hippocampus slices in culture[J]. J Neural Transm,2006,113(1): 93-102.
[9] Paola C,Luisa I,Antonio DB,et al. Reduced insulin-induced phosphatidylinositol-3-kinase activation in peripheral blood mononuclear leucocytes from patients with Alzheimer's disease[J]. Eur J Neu,2007,26(9):2469-2472.
[10] Boyt AA,Taddei TK,Hallmayer J,et al. The effect of insulin and glucose on the plasma concentration of Alzheimer's amyloid precursor protein[J]. Neuroscience,2000,95(3):727-734.
[11] Chesneau V,Vekrellis K,Rosner MR,et al. Purified recombinant insulin degrading enzyme degrades amyloid beta protein but does not promote its oligomerization[J]. Biochem J,2000, 2(3):509-516.
[12] 盛树力. 糖尿病脑病与老年性痴呆[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2001,1(26):58-59.
[13] Richard SJ,Christopher JY,Eleonore Beure. Glycogen synthase kinase-3(GSK3):inflammation,diseases,and therapeutics[J]. Neurochem Res,2007,32(4-5):577-595.

[6] Seong-Ho K,Min YN,Seung HK,et al. Amyloid-beta-induced