

- [J]. 中国药理学通报, 2003, 7: 721
- [6] 中华人民共和国卫生部, 传染性非典型肺炎诊断标准(试行) [S]. 2003
- [7] WHO 国际药品不良反应监察计算机软件说明[S]. 国家药品不良反应监测中心, 1993. 52
- [8] Holme KV. SARS - associated coronavirus[J]. *N Engl J Med*, 2003, 348: 1948
- [9] Zhao Z, Zhang F, Xu M, *et al*. Description and clinical treatment of an early outbreak of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangzhou, PR China[J]. *J Med Microbiol*, 2003, 52(8): 715
- [10] Booth CM, Matukas LM, Tomlinson GA, *et al*. Clinical features and short - term outcomes of 144 patients with SARS in the greater Toronto area[J]. *JAMA*, 2003, 289(21): 2801
- [11] 孟夏, 胡放, 邱祺宏, 等. SARS 基因治疗的核苷酸干扰 (siRNA) 策略[J]. 中国药理学通报, 2003, 7: 723
- (收稿日期: 2004 - 09 - 15; 修回日期: 2004 - 12 - 15)
- (本文编辑 梁爱君)

文章编号: 1008-9926(2005)06-0453-03 中图分类号: R917 文献标识码: A

开胃丸的薄层鉴别与含量测定研究

韩桂茹, 徐韧柳, 刘哲, 宋艳玲

(河北省药品检验所 河北 石家庄 050011)

摘要:目的 制定开胃丸的质量控制方法。方法 对白术、厚朴、陈皮与枳实进行了薄层色谱鉴别, 用高效液相法测定了制剂中厚朴酚与和厚朴酚的含量。结果 通过方法学考察, 厚朴酚的进样量在 0.243 ~ 1.944 μg, 和厚朴酚的进样量在 0.159 25 ~ 1.274 μg 范围内, 呈良好的线性关系。厚朴酚的平均回收率为 100.97% ($n = 5$), RSD 为 0.84%; 和厚朴酚的平均回收率为 99.48% ($n = 5$), RSD 为 0.84%。结论 方法简便、准确、重现性好、精密度高。可用于控制开胃丸的质量。

关键词: 开胃丸; 厚朴酚; 和厚朴酚; HPLC

Studies of TLC and Quantitative Determination of Kai Wei Wan

HAN Gui-Ru, XU Ren-Liu, LIU Zhe, SONG Yan-Ling

(Hebei Provincial Institute for Drug Control, Shijiazhuang 050011, Hebei China)

ABSTRACT: **Aim** To establish a method for the quality control of Kai Wei Wan. **Method** Rhizoma Atractylodis Macrocephalae, Cortex Magnoliae Officinalis, Pericarpium Citri Reticulatae and Fructus Aurantii Immaturus were identified by TLC. The content of magnolol and honokiol in Kai Wei Wan was determined by HPLC. **Results** The methodological study showed that a good linear correlation existed in the range of 0.243 ~ 1.944 μg ($r = 0.999\ 99$) of magnolol and 0.15925 ~ 1.274 μg ($r = 0.999\ 95$) of honokiol applied respectively. The average recovery rate ($n = 5$) was 100.97% for magnolol (RSD was 0.84%) and 99.48% for honokiol (RSD was 0.84%). **Conclusion** This method is simple, accurate and with good repetivity and high precision. The method can be used for quality control of Kai Wei Wan.

KEY WORDS: Kai Wei Wan; magnolol; honokiol; HPLC

开胃丸为河北省药品标准 1975 年版开始收载的品种, 原名为开胃健脾丸, 具健脾和胃, 消食除胀之功效, 用于消化不良, 停食停水, 胸腹胀满, 不思饮食。该丸剂由白术、厚朴、陈皮与枳实四味中药组成。原标准除常规检查外, 无任何检验项目。为有效控制其内在质量, 参照文献^[1~4]对所含 4 味中药均进行了薄层鉴别, 并采用 HPLC 法测定了厚朴酚与和厚朴酚的含量。鉴别专属, 斑点清晰。含量测

定方法简便、快捷、准确。现报道如下:

1 材料

1.1 试药 开胃丸(河北安国药业, 批号 020328, 020326, 020323); 白术、厚朴、陈皮、枳实(均由河北安国药业集团有限公司提供); 厚朴酚、和厚朴酚、辛弗林(均购自中国药品生物制品检定所); 硅胶 G(青岛海洋化工厂生产)。

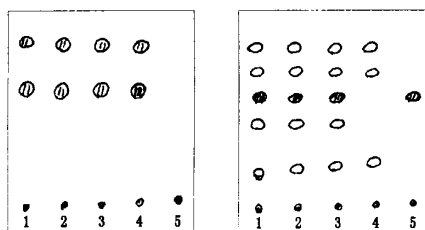
1.2 仪器 高效液相 Echrom 色谱仪(大连依利特公司),Class-VP 色谱仪(日本岛津制作所)。乙腈、冰醋酸为色谱纯,其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 薄层鉴别

2.1.1 白术鉴别 取本品 1.2g,研细,加正己烷 5ml,超声 15min,滤过,滤液作为供试品溶液。另取白术对照药材 0.5g 与不加白术的空白样品 0.3g,同法制成对照药材溶液与空白溶液。吸取上述 3 种溶液各 5 μ l,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上,以石油醚(60~90)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5%香草醛硫酸溶液(必要时加热至斑点显色清晰)。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,空白对照溶液无干扰见图 1。

2.1.2 厚朴的鉴别 取本品 2g,研细,加甲醇 5ml,浸渍 30min,超声 10min,滤过,滤液作为供试品溶液。另取厚朴酚加甲醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液,作为对照品溶液。再取不加厚朴的空白样品同法制成空白溶液。吸取上述 3 种溶液各 5 μ l,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上,以石油醚(60~90)-醋酸乙酯-甲酸(17:3:0.4)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5%香草醛硫酸溶液,在 100 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。空白对照溶液无干扰见图 2。



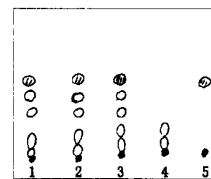
1~3 样品 4 白术对照药材
5 空白对照

图 1 开胃丸中白术的 TLC 图

Fig 1 The TLC of Rhizoma Atractylodes Macrocephalae in Kaiweivan

2.1.3 陈皮与枳实的鉴别 取辛弗林对照品加甲醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液,作为对照品溶液。再取不加陈皮与枳实的空白样品,按厚朴项下的供试品制备方法制成空白溶液。吸取鉴别 2.1.2 项下的供试品溶液与上述 2 种溶液各 5 μ l,分别点于同一含 1%氢氧化钠的羧甲基纤维素钠溶液为粘合剂的硅胶 G 薄层板上,以正丁醇-冰醋酸-水(4:1:5)的上

层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 0.5%茚三酮乙醇液,在 105 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。空白对照溶液无干扰见图 3。



1~3 样品 4 空白样品 5 辛弗林

图 3 开胃丸中陈皮 枳实的 TLC 图

Fig 3 The TLC of Pericarpium Citri Reticulatae and Fructus Aurantii Immaturus in Kaiweivan

2.2 厚朴酚与和厚朴酚的含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱:用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;流动相:乙腈-水-冰醋酸(60:38:2);检测波长:294nm;柱温:室温;流速:1.0ml/min。

2.2.2 溶液的制备 (1)对照品溶液:精密称取厚朴酚与和厚朴酚对照品适量,加流动相制成每 1ml 含厚朴酚 40 μ g,和厚朴酚 24 μ g 的溶液。(2)供试品溶液:取本品研细,精密称取约 0.6g,置具塞三角瓶中,精密加甲醇 25ml,称定重量,浸渍过夜,超声处理 30min,再用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过。取续滤液 15ml,置蒸发皿中,水浴挥去甲醇,用流动相少量多次,定量转移至 25ml 的量瓶中,用流动相稀释至刻度,超声均匀,滤过,即得。

2.2.3 测定波长的选择 采用高效液相色谱仪,对样品与对照品的分离色谱峰分别进行了光谱扫描,扫描结果表明:样品中厚朴酚与和厚朴酚的波峰与其相应的对照品一致,均在(294 $\pm$ 2)nm 处有最大吸收,与中国药典一部收载的有关该两成分的测定波长一致。

2.2.4 线性范围 精密称取厚朴酚与和厚朴酚对照品适量,加流动相配制成含厚朴酚 12.15、24.30、48.60、72.90、97.20 μ g $\cdot$ ml $^{-1}$,和厚朴酚 7.9625、15.925、31.85、47.775、63.70 μ g $\cdot$ ml $^{-1}$ 的溶液。各进样 20 μ l,测其峰面积,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,绘制标准曲线。结果表明:厚朴酚进样量在 0.234~1.944 μ g,和厚朴酚在 0.159~1.274 μ g,进样量与峰面积呈良好的线性关系。厚朴酚与和厚朴酚的回归方程分别为:

$$Y = 1796.12X + 68.06, r = 0.99999$$

$$Y = 1203.73X + 60.94, r = 0.99995$$

2.2.5 精密度实验 取厚朴酚 38.88 μ g $\cdot$ ml $^{-1}$ 与和

厚朴酚 $25.45\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 对照品溶液及相应供试品溶液,各进样 5 次,厚朴酚对照品 5 次测定的平均值为 15 920.44, RSD 为 1.42 %;和厚朴酚对照品的平均值为 10 546.87, RSD 为 1.52 %;供试品中厚朴酚的平均值为 12 956.34, RSD 为 0.96 %;和厚朴酚的平均值为 6 872.75, RSD 为 0.58 %,仪器精密度良好。

2.2.6 样品溶液稳定性试验 取精密度试验项下的对照品溶液与供试品溶液,每隔 6h 注入 1 次,考察了 32h 内的稳定性,对照品厚朴酚的 RSD 为 0.81 %,和厚朴酚的 RSD 为 0.88 %;供试品中厚朴酚的 RSD 为 0.86 %,厚朴酚的为 0.81 %。说明对照品与供试品在 32h 内稳定。

2.2.7 重复性试验 取同一批样品 5 份,按供试品制备及色谱条件项下,进行提取,制备,测定 5 次,结果厚朴酚的 RSD 为 1.32 %,和厚朴酚的 RSD 为 0.83 %。说明方法重现性良好。

2.2.8 回收率试验 采用加样回收试验。取同 1 批样品 6 份,1 份作为平行样品,另 5 份取适量样品,加一定量对照品,按供试品制备及色谱条件项

下,进行提取,制备,测定,计算回收率,结果见表 1。

表 1 厚朴酚与和厚朴酚的回收率试验结果($n = 5$)

Tab 1 Determination of recovery rates of magnolol and honokiol in Kaiwei pills($n = 5$)

成分	加入量 (μg)	样品量 (μg)	总测得量 (μg)	回收率 (%)	$\bar{x}$ (%)	RSD (%)
厚朴酚	622.08	672.53	1294.66	100.01	100.97	0.84
	622.08	669.48	1296.98	100.87		
	622.08	677.76	1301.99	100.35		
	622.08	673.40	1308.47	102.09		
	622.08	671.88	1303.35	101.51		
和厚朴酚	407.68	354.78	758.57	99.05	99.48	0.84
	407.68	353.16	759.35	99.63		
	407.68	357.54	768.67	100.85		
	407.68	355.21	757.42	98.66		
	407.68	354.43	758.99	99.23		

2.2.9 空白试验 取对照品溶液、供试品溶液与空白溶液(处方中不加厚朴的样品),采用上述色谱条件,进行色谱测定。样品与对照品在同一保留时间有相同的波峰出现,而空白溶液则无相应的峰,证明空白样品不干扰测定,含量测定专属,见图 4。

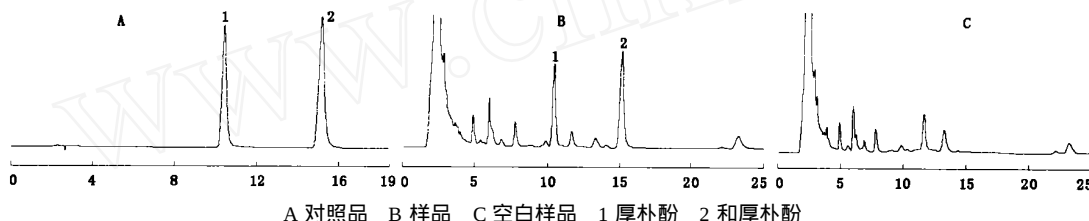


图 4 开胃丸的 HPLC 图

Fig 4 HPLC chromatograms of Kaiweivan

2.2.10 样品的测定 取供试品,按供试品制备及色谱条件项下,进行提取,制备,测定,以外标一点法计算含量,结果见表 2。

表 2 样品中厚朴酚、和厚朴酚的含量测定结果

Tab 2 Content of magnolol and honokiol in Kaiwei pills

批 号	厚朴酚 ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	和厚朴酚 ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	总和 ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)
010328	2.21	1.15	3.36
010326	2.24	1.15	3.37
010323	2.24	1.17	3.36

3 讨论

3.1 厚朴酚与和厚朴酚从化学结构分析,属于微酸性偏脂溶性成分,两成分为同分异构体。参照文献^[1~4]项下的提取溶剂,结合本处方的特点,考察了甲醇、氯仿、乙酸乙酯的提取效果及定容溶剂,结果证明甲醇提取效果最好。定容溶剂采用酸性流动相,可使大量橙皮苷沉淀析出,减少了色谱柱污染,且十余峰分离效果均较好。

3.2 陈皮是芸香科植物橘及其栽培变种的干燥成熟果皮,枳实是芸香科植物酸橙或甜橙的干燥幼果。属同科类似物质,都含辛弗林和橙皮苷成分,象中国药典 2000 年版一部所收载的清胃黄连丸,以盐酸小檗碱同时鉴别与定量测定黄连和黄柏那样,以辛弗林为对照,对陈皮和枳实同时进行鉴别。药典上所收载的该两药的显微鉴别也是同一特征。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部) [S]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 77(白术)
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部) [S]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 204(厚朴)
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部) [S]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 530(香砂养胃丸)
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部) [S]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 516(胃肠安丸)

(收稿日期: 2004 - 11 - 28; 修回日期: 2005 - 06 - 15)

(本文编辑 狄亚敏)