

哮喘固本颗粒剂薄层色谱鉴别及微生物检查

★ 杨卫星 陈浩 (江西省中医院 南昌 330006)

摘要:目的:确立哮喘固本颗粒剂的质量检验标准。方法:采用薄层色谱法鉴别处方中黄芪、白术、防风;采用药典微生物检验标准对哮喘固本颗粒剂进行检测。结果:哮喘固本颗粒剂生产质量状况良好。结论:本研究为哮喘固本颗粒剂的质量检验标准提供了科学依据。

关键词:哮喘固本颗粒剂;薄层色谱鉴别;微生物检验

中图分类号:R 284.1 **文献标识码:**B

哮喘固本颗粒剂具有截哮平喘、扶正固本等功效,用于预防感冒,提高御寒能力,控制和减少慢性气管炎、哮喘、慢性阻塞性肺气肿等疾病。临床使用多年,效果显著。为了控制其质量,保证临床用药安全、有效,我们对哮喘固本颗粒剂进行了质量标准的再研究,采用薄层色谱法对七味处方中防风、黄芪、白术等进行薄层色谱鉴别;并对哮喘固本颗粒剂进行微生物检定。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

玻璃点样毛细管,华西医科大学仪器厂生产;数显恒温水浴锅 HH-S,江苏省金坛市医疗仪器厂;高温灭菌锅,上海博迅实业有限公司医疗设备厂;操作台,苏州净化设备有限公司;电子天平,BS 124S,北京赛多利斯仪器;超声波清洗器,KQ3200,昆山市超

声仪器有限公司;微型植物试样粉碎,FZ-102,天津市泰斯特仪器有限公司;真空干燥箱,DZF-6050,上海博迅实业有限公司;薄层电动涂敷器,YOKO-BF,武汉科新技术开发公司。

1.2 试剂

大肠埃希菌:肉汤,杭州微生物试剂有限公司;对照品,黄芪(120947-200706 中国药品生物制品检定所);对照药材,防风(110781-200613 中国药品生物制品检定所);白术(120925-200708 中国药品生物制品检定所);化学试剂均为分析纯试剂。

2 薄层色谱的实验操作^[1-3]

2.1 防风

2.1.1 供试品溶液的制备 取本品 10 g,加丙酮 50 ml,超声处理 15 分钟,滤过,取续滤液 5 ml 蒸干,残渣加甲醇 1 ml 溶解,作为供试品溶液。

聚合物载体包载鬼臼毒素胶束的性质正在研究中。

参考文献

- [1]徐文严. 尖锐湿疣的治疗进展[J]. 国外医学皮肤病学分册, 1992,18(1):6.
- [2]张覃沐. 鬼臼乙叉甙(VP16)[J]. 河南医学院学报,1985,20(1):62.
- [3]A. Ro'sler G. Vandermeulen, H. Klok, Advanced drug delivery devices via self-assembly of amphiphilic block copolymers[J]. Adv. Drug Del. Rev 2001(53):95-108.
- [4]D. Sutton, N. Nasongkla, E. Blanco, Functionalized micellar systems for cancer targeted drug delivery[J]. Pharma. Res, 2007, 24(6):1029-1046.
- [5]N. Kumar, M. Ravikumar, A. J. Domb, Biodegradable block copolymers[J]. Adv. Drug Del. Rev, 2001(53):23-44.
- [6]J. Liu, F. Zeng, C. Allen, In vivo fate of unimers and micelles of a poly(ethylene glycol)-block-poly(caprolactone) copolymer in mice following intravenous administration[J]. Euro. J. Pharma. Biophar-

ma, 2007(65):309-319.

- [7]S. Zhou, X. mo Deng, H. Yang, Biodegradable poly(ϵ -caprolactone)-poly(ethylene glycol) block copolymers: characterization and their use as drug carriers for a controlled delivery system, Biomaterials, 2003(24):3563-3570.
- [8]张晓云,倪京满. 正交试验法优选鬼臼毒素纳米脂质体的制备工艺[J]. 西北药学杂志, 2006, 21(1):34.
- [9]张琰,程建峰,贺建荣. 高效液相色谱法测定疣克酊中鬼臼毒素的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2002, 22(12):721-722.
- [10]赵三平,尹玥,冯增国 PCL-PEG-PCL 嵌段共聚物的合成与性能[J]. 功能高分子学报, 2002, 14(1):44.
- [11]I. G. Shin, S. Y. Kim, Y. M. Lee, Methoxy poly(ethylene glycol)/ ϵ -caprolactone amphiphilic block copolymeric nanoparticle suspension containing indomethacin. I. Preparation and characterization[J]. J. Control. Release, 51(1998):1-11.

(收稿日期:2009-11-20 责任编辑:曹征)

2.1.2 阴性对照品溶液的制备 除防风外,其余各药按处方量投料制成阴性样品,再按供试品溶液的制备方法,制成阴性对照品溶液。

2.1.3 对照药材溶液的制备 取防风对照药材 1 g,加丙酮 5 ml 溶解,超声处理 15 分钟,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1 ml 溶解,作为对照药材溶液。

2.1.4 薄层色谱鉴别 分别吸取三种溶液各 10 μ l,分别点于同一硅胶 GF254 薄层板上,以三氯甲烷:甲醇 = 8:1 为展开剂,展开,晾干,置紫外灯 254 nm 下检视,对照品与供试品在相同的位置斑点颜色相同。

2.2 黄芪

2.2.1 供试品溶液的制备 取本品 10 g,加甲醇 50 ml,加热回流 1 小时,滤过,滤液通过 D-101 大孔树脂柱,以水 50 ml 洗脱,弃去水液,再用 40% 甲醇 50 ml 洗脱,弃去 40% 甲醇液,继续用 70% 甲醇 50 ml 洗脱,收集洗脱液,用水饱和的正丁醇萃取 2 次,每次 20 ml,合并正丁醇液,用水洗涤 2 次,每次 20 ml,弃去水液,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇 1 ml 使溶解,作为供试品溶液。

2.2.2 阴性对照品溶液的制备 除黄芪外,其余各药按处方量投料制成阴性样品,再按供试品溶液的制备方法,制成阴性对照品溶液。

2.2.3 对照品溶液的制备 另取黄芪甲苷对照品,加甲醇制成每 1 ml 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。

2.2.4 照薄层色谱法 吸取上述三种溶液各 10 μ l 分别点于硅胶 G 板上,以三氯甲烷:甲醇:水 = 13:7:2 的下层溶液为展开剂,展开取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在与黄芪对照品相应的位置上,显示相同的斑点。

2.3 白术

2.3.1 供试品溶液的制备 取本品 10 g,加正己烷 50 ml,超声处理 15 分钟,滤过,取续滤液 5 ml 蒸干,残渣加甲醇 1 ml 溶解,作为供试品溶液。

2.3.2 阴性对照品溶液的制备 除白术外,其余各药按处方量投料制成阴性样品,再按供试品溶液的制备方法,制成阴性对照品溶液。

2.3.3 对照品药材溶液的制备 另取白术对照药材 1 g,加正己烷 5 ml 溶解,超声处理 15 分钟,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1 ml 溶解,作为对照药材溶液。

2.3.4 照薄层色谱法试验 吸取上述制备的三种溶液各 10 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(60~90 $^{\circ}$ C):乙酸乙酯 = 20:1 为展开剂,展开,

取出,晾干,喷以 5% 香草醛硫酸,供试品与对照品在相同的位置都有桃红色主斑点(苍术酮成分)。

3 微生物检测^[1,4]

3.1 细菌、霉菌以及酵母菌的检测

采用药典配置方法配置 pH 为 7 的氯化钠——蛋白胨溶液,取 10 g 咳喘固本颗粒用 100 ml 氯化钠——蛋白胨缓冲液溶解,作为 1:10 的供试液,再依次用 pH 为 7 的氯化钠——蛋白胨缓冲液稀释成 1:100,以及 1:1 000 等稀释溶液。

营养琼脂培养基下的细菌检测:1:10 的供试液,1:100,以及 1:1 000 等稀释溶液均未有细菌的存在。

玫瑰红钠琼脂培养基下的霉菌以及酵母菌的检测:1:10 的供试液,1:100 以及 1:1 000 等稀释溶液也有霉菌以及酵母菌存在。

3.2 控制菌检查

大肠埃希菌的检查

阳性对照:取供试品做阳性对照,照控制菌检测法操作,加入 50 cfu 的菌量,检出相应数量的控制菌。

阴性对照:取稀释液 10 ml 照控制菌检测法操作,并未有菌生长。

供试品检测:取供试液 10 ml 接种至 100 ml 的胆盐乳糖培养基中,培养 24 小时,取上述培养物 0.2 ml,接种至 5 ml MUG 培养基的试管内,5 小时,24 小时后在 366 nm 紫外线观察,与未接种的 MUG 培养基培养基本底对照,管内培养物并未出现荧光,且沿培养管的管壁缓缓加入数滴靛基质试液,管内仍呈试剂本色。

因此可判定,供试品中未检出大肠埃希菌。

4 讨论

采用薄层色谱法鉴别方中防风、黄芪、白术,经阴性试验,结果表明阴性无干扰;微生物检测,咳喘固本颗粒剂已达到国家医疗制剂质量标准的要求,为下一步质量标准的制定提供了科学依据。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2005 年版一部)[S]. 北京:化学工业出版社,2005,102,212,附录 71-75.
- [2] 吕武清,龙新华,吴朝阳,等. 中成药中的药材薄层色谱鉴别[M]. 北京:人民卫生出版社,1997:475.
- [3] 李薇,肖翔林,张丹燕,等. 中药薄层色谱鉴别[M]. 北京:北京化学工业出版社,2004:76-78,135-137.
- [4] 郑钧儒,王光宝,马绪荣,等. 药品微生物学及检验技术[M]. 北京:人民卫生出版社,1989:282-285.

(收稿日期:2009-04-20 责任编辑:曹征)