

乳核内消软胶囊质量标准研究

王 昕¹, 蒋 沁² (1. 河北医科大学附属第二医院药剂科, 石家庄市 050000; 2. 华北制药集团新药研究开发中心, 石家庄市 050015)

中图分类号 R927.1 文献标识码 A 文章编号 1001-0408(2007)09-0691-03

摘要 目的: 建立乳核内消软胶囊的质量标准。方法: 采用薄层色谱法对乳核内消软胶囊中的赤芍、当归和夏枯草进行定性鉴别; 采用高效液相色谱法对制剂中芍药苷进行含量测定。色谱柱: Diamonsil™ C₁₈ (250mm × 4.6mm, 5μm); 流动相: 乙腈-水 (13: 87); 检测波长: 230nm; 进样量: 20μL。结果: 薄层色谱中, 供试品溶液在与对照药材或对照品相应位置上显相同颜色的斑点, 阴性对照无干扰; 高效液相色谱中, 芍药苷检测浓度在 5.1~40.8mg·mL⁻¹ 范围内线性关系良好 ($r = 0.9977$), 平均回收率为 98.91% (RSD = 0.34%, $n = 5$)。结论: 薄层色谱法斑点清晰、专属性强, 可用于该制剂的鉴别; 高效液相色谱法简便快速, 精密度和准确度高, 所建标准可用于该药的质量控制。

关键词 乳核内消软胶囊; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 赤芍; 当归; 夏枯草; 芍药苷

Study on Quality Standard for Ruheneixiao Soft Capsules

WANG Xin (Department of Pharmacy, The Second Affiliated Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, China)

JIANG Qin (Center of Drug Research and Development, North China Pharmaceutical Group Corporation, Shijiazhuang 050015, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard for Ruheneixiao soft capsules. METHODS: Radix Paeoniae Rubra, Radix Angelicae Sinensis and Spica Prunellae were identified using TLC. The content of Paeoniflorin in Ruheneixiao Soft Capsules was determined with HPLC. HPLC analytical method was carried out using a C₁₈ column and a mixture containing 13 volume of acetonitrile and 87 volume of water as the mobile phase. The detection wavelength was set at 230nm. RESULTS: Spots obtained from the test solutions had the same color in reference solution and medical material in the same location, and the blank solution had no interference. The linear range of Paeoniflorin was from 5.1 to 40.8mg·mL⁻¹ ($r = 0.9977$) and the average recovery was 98.91% (RSD = 0.34%, $n = 5$). CONCLUSIONS: The TLC method produced distinctive spots, and was highly specific for use in the determination of Ruheneixiao soft capsules. The HPLC method was simple and fast, with high accuracy and precision. The standard can be used for the quality control of the drug.

KEY WORDS Ruheneixiao soft capsules; TLC; HPLC; Radix Paeoniae Rubra; Radix Angelicae Sinensis; Spica Prunellae; Paeoniflorin

乳核内消液具有疏肝活血、软坚散结之功效, 用于治疗经期乳胀、疼痛、有块, 月经不调或量少等证。其质量标准收载于卫生部药品标准中药成方制剂第6册。笔者根据其药物性质和剂型特点, 将其改造成软胶囊, 并采用薄层色谱 (TLC) 法和高效液相色谱 (HPLC) 法建立了其鉴别和含量测定方法。

1 材料

1.1 仪器

1100 高效液相色谱仪, 包括四元泵、在线脱气机、手动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器、化学工作站 (美国 Agilent 公司); TCQ-250 超声波清洗器 (北京医疗设备二厂)。

1.2 试剂

芍药苷对照品 (批号: 110736-200422) 及当归、夏枯草对照药材由中国药品生物制品检定所提供; 乳核内消软胶囊由河北医科大学附属第二医院自制; 乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 赤芍的定性鉴别^[1]

主管药师。研究方向: 药品检验与质量标准。电话: 0311-87222882。E-mail: rosewang1973@126.com

2.1.1 供试品溶液的制备: 取本品 10 粒, 剪开, 取内容物 2.0g, 加乙醚 40mL, 放置 10min, 滤过, 残渣加乙醇 20mL, 超声提取 20min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加乙醇 2mL 使溶解, 即得。

2.1.2 对照品溶液的制备: 取芍药苷对照品, 加甲醇制成每 1mL 含 2mg 的溶液, 即得。

2.1.3 阴性对照品溶液的制备: 取缺赤芍的样品, 按“2.1.1”项下方法制备成阴性对照品溶液。

2.1.4 TLC 鉴别: 吸取上述 3 种溶液各 10μL, 分别点于同一块硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-醋酸乙酯-甲醇-甲酸 (40: 5: 10: 0.2) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 香草醛硫酸溶液, 加热至斑点显色清晰。结果, 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, 阴性对照色谱无干扰, 详见图 1。

2.2 当归的定性鉴别^[2]

2.2.1 供试品溶液的制备: 取本品 10 粒, 剪开, 取内容物, 照挥发油测定法^[1], 提取挥发油 3h, 收集水及挥发油, 置分液漏斗中, 用石油醚 (30~60℃) 提取 3 次, 每次 10mL, 合并石油醚提取液, 净置, 分取上清液, 蒸干, 残渣加氯仿 1mL 使溶解, 即得。

2.2.2 对照药材溶液的制备: 取当归对照药材 1g, 置具塞锥形瓶中, 加乙醚 50mL, 振摇提取 30min, 滤过, 滤液挥干, 残渣

加氯仿 2mL 使溶解, 即得。

2.2.3 阴性对照品溶液的制备: 取缺当归的样品, 按“2.2.1”项下方法制备成阴性对照品溶液。

2.2.4 TLC 鉴别: 吸取上述 3 种溶液各 10 μ L, 分别点于同一块硅胶 G 薄层板上, 以石油醚 (30~60 $^{\circ}$ C) - 醋酸乙酯 (17:3) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯 (365nm) 下检视。结果, 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, 阴性对照色谱无干扰, 详见图 2。

2.3 夏枯草的定性鉴别^[3,4]

2.3.1 供试品溶液的制备: 取本品 10 粒, 剪开, 取内容物 3.0g, 加乙醚 40mL, 放置 10min, 滤过, 残渣加乙醇 20mL, 超声处理 20min, 滤过, 滤液蒸干, 用石油醚 (30~60 $^{\circ}$ C) 浸泡 2 次, 每次 15mL (约 2min), 倾去石油醚液, 残渣加乙醇 1mL 使溶解, 即得。

2.3.2 对照药材溶液的制备: 取夏枯草对照药材 1.0g, 置锥形瓶中, 加乙醇 20mL, 超声处理 20min, 滤过, 滤液蒸干, 用石油醚 (30~60 $^{\circ}$ C) 浸泡 2 次, 每次 15mL (约 2min), 倾去石油醚液, 残渣加乙醇 1mL 使溶解, 即得。

2.3.3 阴性对照品溶液的制备: 取缺夏枯草的样品, 按“2.3.1”项下方法制备成阴性对照品溶液。

2.3.4 TLC 鉴别: 吸取上述 3 种溶液各 20 μ L, 分别点于同一块硅胶 G 薄层板上, 以环己烷-氯仿-醋酸乙酯-冰醋酸 (20:5:8:0.5) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 在 100 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰, 置日光下检视。结果, 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, 阴性对照色谱无干扰, 详见图 3。

2.4 含量测定

2.4.1 色谱条件: 色谱柱为 DiamonsilTM C₁₈ (250mm $\times$ 4.6mm, 5 μ m), 流动相为乙腈-水 (13:87), 流速为 1.0mL $\cdot$ min⁻¹, 检测波长为 230nm, 柱温为 30 $^{\circ}$ C, 进样量为 20 μ L。

2.4.2 对照品溶液的制备: 精密称取经五氧化二磷减压

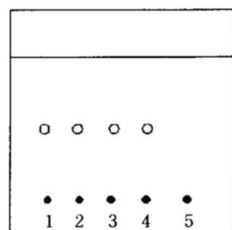


图 1 赤芍的 TLC

1~3 批样品; 4. 芍药苷对照品; 5. 阴性对照品

Fig 1 TLC of Radix Paeoniae Rubra

1~3. three batches of samples; 4. reference substance of Paeoniflorin; 5. negative control

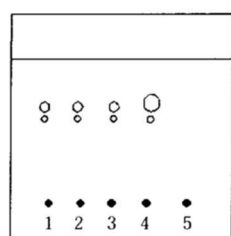


图 2 当归的 TLC

1~3 批样品; 4. 当归对照药材; 5. 阴性对照品

Fig 2 TLC of Radix Angelicae Sinensis

1~3. three batches of samples; 4. reference substance of Radix Angelicae Sinensis; 5. negative control

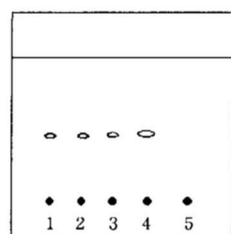


图 3 夏枯草的 TLC

1~3 批样品; 4. 夏枯草对照药材; 5. 阴性对照品

Fig 3 TLC of Spica Prunellae

1~3. three batches of samples; 4. reference substance of Spica Prunellae; 5. negative control

干燥器干燥 36h 的芍药苷对照品适量, 加甲醇制成每 1mL 含 0.02mg 的溶液, 即得。

2.4.3 供试品溶液的制备^[5]: 取装量项下的内容物, 混匀, 取约 3.2g, 精密称定, 加甲醇 40mL, 称定重量, 置水浴上回流提取 1h, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足损失的重量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 5mL, 加于已处理好的中性氧化铝柱 (内径 9mm, 层析用中性氧化铝 3g, 100~200 目, 干法装柱) 上, 用 50% 甲醇洗脱, 收集洗脱液约 45mL, 置 50mL 量瓶中, 加 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 取 30mL, 用正己烷提取 2 次, 每次 20mL, 弃去正己烷层, 精密吸取 5mL, 移至 25mL 量瓶中, 加 50% 甲醇稀释至刻度, 即得。

2.4.4 空白试验: 取去赤芍的阴性样品, 按“2.4.3”项下方法制备阴性对照溶液, 并按上述方法测定。结果, 阴性对照溶液在芍药苷色谱峰处无干扰, 详见图 4。

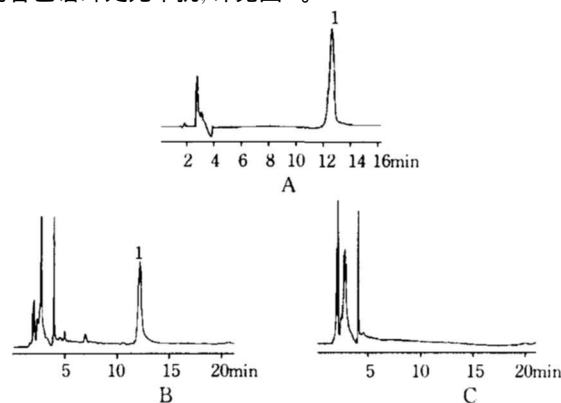


图 4 高效液相色谱

A. 芍药苷对照品; B. 乳核内消软胶囊; C. 阴性对照品; 1. 芍药苷

Fig 4 HPLC

A. reference substance of paeoniflorin; B. Ruheneixiao Soft Capsules; C. negative control; 1. paeoniflorin

2.4.5 线性关系考察: 取经五氧化二磷减压干燥 36h 的芍药苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇溶解并稀释成每 1mL 含 51 μ g 的溶液, 分别吸取上述溶液 2、4、6、8、10、12、16 μ L, 按“2.4.1”项下色谱条件依法进样, 测定峰面积。以峰面积 (Y) 为纵坐标, 芍药苷进样量 (X) 为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程 $Y = 23489X - 90862$ ($r = 0.9977$, $n = 8$)。结果表明, 芍药苷对照品检测浓度在 5.1~40.8 μ g $\cdot$ mL⁻¹ 范围内与峰面积成良好的线性关系。

2.4.6 精密度试验: 取软胶囊内容物约 3.2g, 按“2.4.3”项下方法制备溶液, 按“2.4.1”项下色谱条件重复进样 5 次。结果, 芍药苷峰面积的相对标准差 (RSD) 为 0.53%。

2.4.7 重现性试验: 取同一批软胶囊内容物各 5 份, 按“2.4.3”项下方法制备溶液。结果, RSD = 0.57%。

2.4.8 稳定性试验: 取软胶囊内容物约 3.2g, 按“2.4.3”项下方法制备溶液, 将溶液放置 0、2、4、6、8、10、12、24h 后分别测定。结果, RSD = 1.00%, 表明供试品溶液在 24h 内稳定。

2.4.9 最低检测限的测定: 精密吸取上述对照品溶液适量, 加甲醇溶解并逐步稀释至所得色谱中信号比 (S/N) ≥ 3 。结果, 芍药苷的最低检测限为 23.2ng。

2.4.10 加样回收率试验: 取同一批软胶囊内容物 5 份, 每份约 1.6g, 精密称定, 精密加入芍药苷对照品溶液适量, 按“2.4.3”项下方法制备溶液, 测定并计算回收率, 结果见表 1。

2.4.11 样品含量测定: 称取 3 批不同批号的乳核内消软胶囊内容物, 按“2.4.3”项下方法制备供试品溶液, 测定样品含

高效液相色谱法测定小叶黑柴胡中槲皮素与异鼠李素的含量

周 伟^{1,2}, 蔡光明^{1#}, 黄鹤慧¹, 何桂霞², 刘鄂湖^{1,2}, 朱海升¹, 熊含晖^{1,2} (1. 解放军 302 医院全军中药研究所, 北京市 100039; 2. 湖南中医药大学药学院, 长沙市 410007)

中图分类号 R284.1; R927.2 文献标识码 A 文章编号 1001-0408(2007)09-0693-03

摘要 目的: 建立以高效液相色谱法测定小叶黑柴胡茎叶中槲皮素、异鼠李素含量的方法。方法: 色谱柱为 Kromasil C₁₈ (250mm × 4.6mm, 5μm), 流动相为甲醇-0.4% 磷酸溶液(55: 45), 流速为 1.0mL · min⁻¹, 检测波长为 256nm。结果: 槲皮素的线性范围为 0.08~0.40μg (r=0.999 6), 平均回收率为 101.02% (RSD=1.53%); 异鼠李素的线性范围为 0.06~0.30μg (r=0.999 2), 平均回收率为 101.26% (RSD=2.95%)。结论: 本法操作简便、准确、重现性好, 可用于小叶黑柴胡药材的质量控制。关键词 高效液相色谱法; 小叶黑柴胡; 槲皮素; 异鼠李素; 含量测定

Determination of the Contents of Quercetin and Isorhamnetin in *Bupleurum smithii* var. *parvifolium* Shan et Y. Li by HPLC

ZHOU Wei, CAI Guangming, HUANG Hehui, LIU Ehu, ZHU Haisheng, XIONG Hanhui (PLA Institute of Chinese Materia Medica, 302 Hospital of PLA, Beijing 100039, China)
ZHOU Wei, HE Guixia, LIU Ehu, XIONG Hanhui (School of Pharmacy, Hunan University of TCM, Changsha 410007, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish an HPLC method for determining the contents of Quercetin and Isorhamnetin in *Bupleurum smithii* var. *parvifolium* Shan et Y. Li. METHODS: The HPLC was performed on Kromasil column C₁₈ (250mm × 4.6mm, 5μm), using methanol-0.4% phosphoric acid(55: 45) as mobile phase, with flow rate at 1.0mL · min⁻¹ and detection wavelength at 256nm. RESULTS: The linear range of Quercetin was 0.08~0.40μg (r=0.999 6), with an average recovery rate of 101.02% (RSD=1.53%); that of Isorhamnetin was 0.06~0.30μg (r=0.999 2), with an average recovery rate of 101.26% (RSD=2.95%). CONCLUSION: This method is simple and accurate with good reproducibility. It is suitable for the quality control of *Bupleurum smithii* var. *parvifolium* Shan et Y. Li.

KEY WORDS HPLC; *Bupleurum smithii* var. *parvifolium* Shan et Y. Li; Quercetin; Isorhamnetin; Content determination

表 1 芍药苷的加样回收率试验结果(n=5)

Tab 1 Results of recovery test for Paeoniflorin(n=5)

样品含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	$\bar{x}$ /%	RSD/%
4.789 5	4.271 0	9.016 5	98.97		
4.762 8	4.271 0	8.983 8	98.83		
4.768 5	4.271 0	8.999 8	99.07	98.91	0.34
4.764 7	4.271 0	9.005 4	99.29		
4.770 4	4.271 0	8.972 6	98.39		

量, 结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果

Tab 2 Results of sample content determination

批号	芍药苷含量/mg · 粒 ⁻¹
050602	2.42
050603	2.36
050604	2.32

3 讨论

乳核内消软胶囊由浙贝母、当归、赤芍、漏芦、茜草、香附、柴胡、橘核、夏枯草、丝瓜络、郁金、甘草等 12 味中药组成。在制备工艺中, 当归、香附、柴胡、郁金 4 味药先行提取挥发油, 药渣再与其它药味一起水提。但挥发油易挥发散失, 因此笔者将其

制成软胶囊, 有利于较完全地保存挥发油。
赤芍为乳核内消软胶囊处方中的君药, 含有赤芍总苷等成分, 其中芍药苷是其有效成分, 也具有一定的活性。本文以该成分为指标, 通过鉴别赤芍并测定其含量来控制乳核内消软胶囊质量, 方法精密度高、准确性高, 具有较强的专属性。
在测定乳核内消软胶囊中的芍药苷含量时, 若直接采用甲醇超声提取, 获得的含量测定值较低, 不易将芍药苷提取完全; 改用回流法提取后, 虽可显著改善提取效果, 但干扰成分也多, 故采用中性氧化铝柱处理提取液, 并用正己烷去除植物油, 从而获得了满意效果。
综上所述, 本文所建标准可用于本制剂的质量控制。

参考文献

[1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 2005 年版. 北京: 化学工业出版社, 2005: 109.
[2] 杨建冬. 妇康宁片的薄层鉴别[J]. 中成药, 2005, 27(12): 5.
[3] 李培毅, 牛艳艳, 冯玛莉, 等. 疏可眠胶囊质量标准研究[J]. 中成药, 2000, 22(9): 618.
[4] 黄月纯, 黄可儿. 舒口散的质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2000, 6(6): 9.
[5] 仲崇林, 于江波, 杨美林, 等. 高效液相色谱法测定鹿胎软胶囊中芍药苷含量[J]. 长春中医药大学学报, 2005, 21(4): 47.
(收稿日期: 2006-05-24 修回日期: 2006-09-15)

硕士研究生。研究方向: 中药活性成分。电话: 010-66933324。
E-mail: zyx yzw@126.com
通讯作者: 研究员。研究方向: 新药开发。电话: 010-66933323。
E-mail: cmg1004@vip.sina.com