

逍遥萎贝胶囊的质量标准研究

周玉枝¹ 李慧峰² 孟霜² 崔健²

【摘要】目的 建立逍遥萎贝胶囊的质量控制方法。**方法** 采用薄层色谱法(TLC)对方中白术、当归、浙贝母和柴胡进行定性鉴别;采用高效液相色谱法(HPLC)测定处方中芍药苷的含量,色谱柱:Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×200 mm,5 μm);流动相:甲醇-0.1%磷酸水溶液(30:70,v/v);流速:1.00 mL·min⁻¹;检测波长:232 nm;进样量 10 μL。**结果** 薄层鉴别的色谱斑点清晰,特征斑点对应性强,阴性对照无干扰;芍药苷进样量在 65~1 300 ng 范围内与峰面积具有良好的线性关系, $r=0.999\ 9$,平均回收率为 99.43%($n=6$),RSD 为 1.97%。**结论** 所建立的方法简便、准确、重现性好,可作为逍遥萎贝胶囊的质量控制标准。

【关键词】 逍遥萎贝胶囊;芍药苷;薄层色谱法;高效液相色谱法

Research on Quality Standard of Xiaoyao Loubei Capsule Effect

ZHOU Yu-zhi¹, LI Hui-feng², MENG Shuang², CUI Jian²

(1. No. 2 Chinese Medicine Hospital of Shanxi College of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan Shanxi 030024; 2. Shanxi College of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan Shanxi 030024)

【Abstract】Objective To establish the quality control method of xiaoyao loubei capsule. **Methods**

The thin layer chromatography(TLC) was adopted to have a qualitative identification of rhizome atractylodis macrocephalae, angelica sinensis, thunberg fritillary bulb and radix bupleuri in the ingredients of the formula. The high performance liquid chromatography(HPLC) was used to determine the content of paeoniflorin. Color column: Diamonsil C₁₈ color column(4.6 mm×200 mm, 5 μm); mobile phase: methanol-0.1% phosphoric acid solution(30:70, v/v); flow rate: 1.00 mL·min⁻¹; wavelength: 232 nm; sample size: 10 μL. **Results** It was indicated in TLC identification that the color spectrum dots were clear, the characteristic dots were correspondent strongly among each other, and the negative control was not interfered. The good linear relationship presented between the sample size ranged from 65 to 1 300 ng and peak area for paeoniflorin, $r=0.999\ 9$, average recovery rate was 99.43% ($n=6$) and RSD was 1.97%. **Conclusion** The established method is simple and accurate in operation and good in repeatability. It can be used as the quality control standard of xiaoyao loubei capsule.

【Key words】 Xiaoyao loubei capsule; Paeoniflorin; Thin layer chromatography(TLC); High performance liquid chromatography(HPLC)

逍遥萎贝胶囊由白术、当归、瓜蒌、浙贝母等多味中药组成,具有疏肝理气、化痰散结的功能,用于乳腺增生症、瘰疬未溃者的治疗。为了有效地监控本品的质量,建立了其主要药味的薄层色谱鉴别和高效液相色谱测定的方法。实验证明,本实验方法简便易行,结果重现性好,专属性强,能够很好地控制该产品质量。现将具体方法报道如下。

仪器和试剂

1. 实验仪器:美国 Waters2695 高效液相色谱仪, Waters2998 检测器, 瑞士 METTLERAB135-S 电

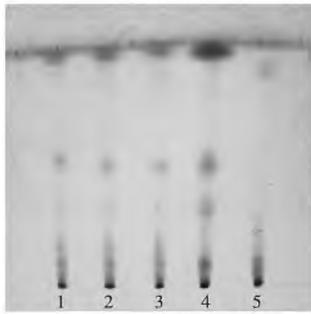
子天平。

2. 实验试剂:甲醇为色谱纯,水为娃哈哈纯净水,其余试剂为分析纯;芍药苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号:110736-200423);白术、当归、浙贝母和柴胡对照药材(批号分别为:120925-200708、120927-200411、120972-200404 和 120992-0301)均由中国药品生物制品鉴定所提供。硅胶 G 薄层板:青岛海洋化工厂。逍遥萎贝胶囊(本院制剂室提供,批号:090701、090702、090703)。

方法与结果

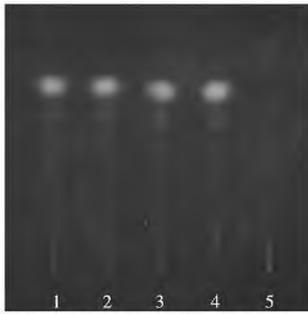
1. 薄层色谱鉴别

(1)白术的鉴别:取本品内容物 2 g,加正己烷 25 mL,超声提取 30 min,滤过,滤液挥干,残渣加正



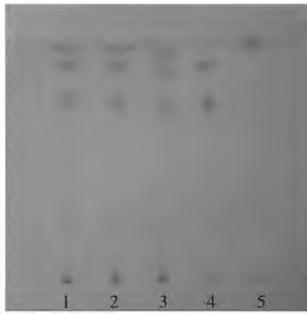
1~3.供试品 4.白术对照药材
5.缺白术阴性对照

图1 白术薄层色谱图



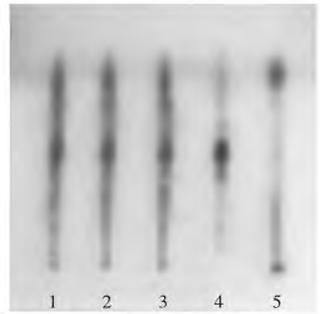
1~3.供试品 4.当归对照药材
5.缺当归阴性对照

图2 当归薄层色谱图



1~3.供试品 4.浙贝对照药材
5.缺浙贝阴性对照

图3 浙贝薄层色谱图



1~3.供试品 4.柴胡对照药材
5.缺柴胡阴性对照

图4 柴胡薄层色谱图

己烷 0.5 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取白术对照药材 0.5 g,同供试品溶液制备,作为药材对照溶液。照薄层色谱法试验,吸取上述两种溶液各 5 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(60~90℃)-乙酸乙酯(50:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 香草醛硫酸溶液,在 105℃ 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。结果见图 1。

(2) 当归的鉴别:取本品内容物 2 g,加正己烷 25 mL,超声提取 30 min,滤过,滤液挥干,残渣加正己烷 0.5 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取当归对照药材 0.5 g,同供试品溶液制备,作为药材对照溶液。照薄层色谱法试验,吸取上述两种溶液各 5 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正己烷-乙酸乙酯(4:1)为展开剂,展开,取出,晾干,紫外光灯(365 nm)下检视。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。结果见图 2。

(3) 浙贝母的薄层鉴别:取本品内容物 5 g,加浓氨试液 2.5 mL,加甲苯 30 mL,超声提取 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加二氯甲烷 0.5 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取浙贝母对照药材 2 g,同供试品溶液制备,作为对照药材溶液。照薄层色谱法试验,吸取上述两种溶液各 10 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-甲醇-浓氨(17:2:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以稀碘化铋钾试液,晾至斑点显色清晰。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。结果见图 3。

(4) 柴胡的薄层鉴别:取本品内容物 5 g,加甲醇 50 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 30 mL 加热溶解,转移至分液漏斗中,用水饱和的正丁醇萃取 3 次,每次 20 mL,合并正丁醇萃取液,用氨试液洗涤 3 次,每次 30 mL,弃去氨液,正丁醇液挥干,残渣加甲醇 0.5 mL 使溶解,作为供试品溶

液。另取柴胡对照药材 1 g,加水 30 mL,煎煮 30 min,滤过,用水饱和正丁醇萃取三次,每次 20 mL,合并正丁醇萃取液,用氨试液洗涤 3 次,每次 30 mL,弃去氨液,正丁醇液挥干,残渣加甲醇 0.5 mL 使溶解,作为对照药材溶液。照薄层色谱法试验,吸取上述两种溶液各 5 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-甲醇-水(8:2:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 香草醛硫酸溶液,热风吹至斑点显色清晰。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。结果见图 4。

2. 含量测定

(1) 色谱条件及系统适应性试验:固定相:Diomonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.1% 磷酸水溶液(30:70, v/v);流速:1.00 mL · min⁻¹;柱温:30℃;检测波长:232 nm。在此条件下芍药苷与样品中其他组分能基线分离;阴性对照无干扰。结果见图 5。

(2) 供试品溶液的制备:取本品内容物 1.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加甲醇 50 mL,称定重量,超声处理 30 min,放冷,再次称定重量,用甲醇补足减失重量,滤过,即得。

(3) 线性关系的考察:精密称取芍药苷对照品 1.30 mg,置 10 mL 棕色量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀;再分别精密吸取 0.1、0.2、0.4、0.8、1.6、2.0 mL 至 2 mL 量瓶中,得不同浓度对照品溶液,分别进样 10 μL,测定峰面积积分值,以峰面积积分值为纵坐标(Y),进样量为横坐标(X, ng)作图,得一直线回归方程:Y = 2 645.4X - 21 226, R₂ = 0.999 8, r = 0.999 9,故芍药苷在进样量在 65 ~ 1 300 ng 范围内与峰面积呈良好线性关系。

(4) 精密度试验:精密吸取芍药苷对照品溶液(52 μg · mL⁻¹)吸取 10 μL,分别进样 6 次,测定峰面积积分值, RSD = 1.35%,结果表明仪器精密度良好。

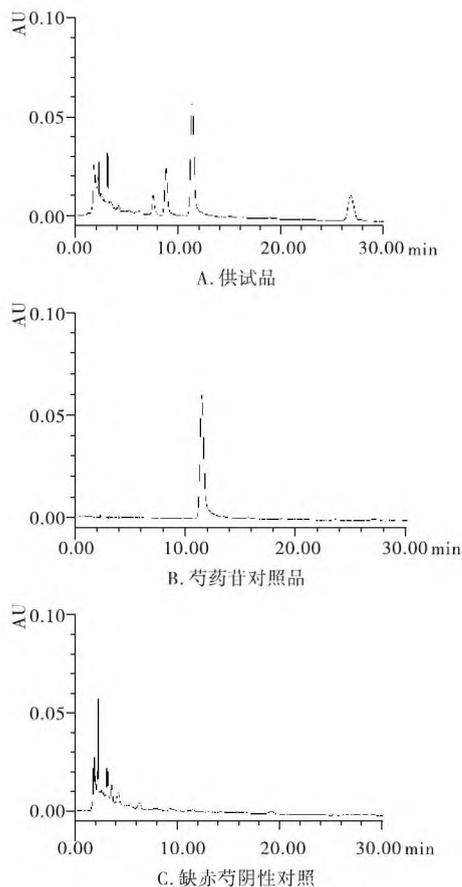


图5 逍遥蓼贝胶囊HPLC图谱

(5) 稳定性试验: 取供试品溶液(批号: 090701) 在 0、2、4、6、8、12 h 分别进样 10 μL , 测得样品中芍药苷峰面积积分值, $RSD = 1.48\%$, 结果表明供试品在 12 h 内稳定。

(6) 重复性试验: 取同一批样品(批号: 090701) 6 份, 每份 1.5 g, 精密称定, 按“供试品溶液制备”的方法制备。按上述色谱条件, 进样, 测定样品中芍药苷的含量。结果样品中芍药苷的平均含量为 $2.01 \text{ mg} \cdot \mu\text{g}^{-1}$, $RSD = 1.51\%$ 。结果表明, 该方法重复性良好。

(7) 加样回收率试验: 采用加样回收法试验, 精密称取已知含量的样品(批号: 090701, $2.01 \text{ mg} \cdot \mu\text{g}^{-1}$) 6 份, 每份 0.75 g, 分别精密加入芍药苷对照品溶液($1.97 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 0.8 mL, 按“供试品溶液制备”项下的方法制备供试品溶液, 依法测定, 计算回收率。结果表明该法具有良好的回收率。结果见表 1。

表 1 加样回收率试验测定结果

| 编号 | 取样量 (g) | 样品中含有量 (mg) | 加入量 (mg) | 测得量 (mg) | 回收率 (%) | 平均回收率 (%) | RSD (%) |
|----|------------|----------------|-------------|-------------|------------|--------------|------------|
| 1 | 0.7326 | 1.775 | 1.576 | 3.046 | 99.83 | 99.43 | 1.97 |
| 2 | 0.6676 | 1.531 | 1.576 | 2.863 | 96.50 | | |
| 3 | 0.7709 | 1.691 | 1.576 | 3.165 | 102.52 | | |
| 4 | 0.7411 | 1.720 | 1.576 | 3.081 | 100.97 | | |
| 5 | 0.7456 | 1.593 | 1.576 | 3.045 | 98.10 | | |
| 6 | 0.7928 | 1.603 | 1.576 | 3.015 | 98.39 | | |

(8) 样品含量测定: 取 3 批样品, 按供试品溶液制备方法制备, 依法测定, 计算样品中芍药苷的含量。结果见表 2。

表 2 样品中芍药苷含量测定结果($\text{mg} \cdot \mu\text{g}^{-1}$)

| 批号 | 芍药苷含量 | 均值 |
|--------|-------|------|
| 090701 | 2.01 | 1.81 |
| 090702 | 1.65 | |
| 090703 | 1.78 | |

讨 论

赤芍为本方的主要药味之一, 芍药苷为赤芍的主要有效成分, 故选择芍药苷作为控制本品质量的指标成分。试验参照药典与文献报道^[1-3], 结果采用流动相为甲醇-0.1% 磷酸水溶液(30:70, v/v), 所得色谱峰形好, 保留时间短, 可达到理想的分离度。

本质量标准对逍遥蓼贝胶囊的白术、当归、浙贝母和柴胡采用薄层色谱法鉴别, 方法简便、灵敏、可靠; 再加之用高效液相色谱法对芍药苷的含量测定, 可以进一步有效控制本品的质量, 确保用药安全有效。

参 考 文 献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 2010 版. 北京: 化学工业出版社, 2010: 147.
- [2] 夏金华. 高效液相色谱法测定胃灵颗粒中芍药苷的含量[J]. 海峡药学, 2011, 23(1): 44-45.
- [3] 李海燕, 康健. 冠心病生脉口服液质量标准研究[J]. 中国药业, 2011, 20(1): 18-20.

(收稿日期: 2011-02-25)