

舒眠片的质量控制研究

孟红莲¹, 刘新义^{2*}, 李嫦玲³

1. 益阳市第四人民医院 药剂科, 湖南 益阳 413000

2. 中南大学湘雅二医院 新制剂开发重点研究室, 湖南 长沙 410011

3. 益阳市第一中医医院, 湖南 益阳 413000

摘要: 目的 建立薄层色谱法定性鉴别舒眠片中柴胡、白芍, 并建立 HPLC-ELSD 法测定舒眠片中酸枣仁皂苷 A 的方法。方法 Diamonsil C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1%磷酸水溶液, 梯度洗脱; 体积流量: 1 mL/min; 进样量: 10 μL; 漂移管温度: 105 °C; 气体流量: 2.8 L/min。结果 薄层色谱法鉴别出柴胡、白芍, 酸枣仁皂苷 A 在 20~120 μg/mL 呈良好的线性关系 ($r=0.999\ 8$), 平均回收率为 99.75%, RSD 值为 0.34%。结论 柴胡、白芍的薄层色谱定性鉴别, 操作简便, 且阴性无干扰; 酸枣仁皂苷 A 的 HPLC-ELSD 测定方法准确、简便、重复性好, 可以作为舒眠片的质量控制方法。

关键词: 舒眠片; 柴胡; 白芍; 酸枣仁皂苷 A; 薄层色谱; 高效液相色谱-蒸发光散射

中图分类号: R286.02 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2013)05-0716-04

DOI:10.7501/j.issn.1674-5515.2013.05.015

Quality control of Shumian Tablets

Meng Hong-lian¹, Liu Xin-yi², Li Chang-ling³

1. Department of Pharmacy, the Fourth People's Hospital of Yiyang, Yiyang 413000, China

2. Key Research Laboratory for Development of New Drugs, the Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410011, China

3. Pharmacy Department, The first Traditional Chinese Medicine Hospital of Yiyang, Yiyang 413000, China

Abstract: **Objective** To establish a quantitative method for the identification of *Bupleuri Radix* and *Paeoniae Alba Radix* in Shumian Tablets by TLC, and the determination of jujuboside A in Shumian Tablets by HPLC-ELSD. **Methods** Diamonsil C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used. The mobile phase consisted of acetonitrile - 0.1% phosphoric acid water solution and the gradient elution was carried out. The flow rate was 1.0 mL/min with injection volume 10 μL. The temperature of column and drift tube was set at 105 °C. The flow rate of gas maintained at 2.8 L/min. **Results** *Bupleuri Radix* and *Paeoniae Alba Radix* were identified by TLC. The linear ranges of jujuboside A was 20 — 120 μg/mL ($r=0.999\ 8$). The average recovery was 99.75% (RSD=0.34%). **Conclusion** The method for the identification of *Bupleuri Radix* and *Paeoniae Alb Radix* in Shumian Tablets by TLC is simple and negative sample has no interference. The method for the determination of jujuboside A is accurate, simple, and reproducible. The method can be used for the quality control of Shumian Tablets.

Key words: Shumian Tablets; *Bupleuri Radix*; *Paeoniae Alba Radix*; jujuboside A; TLC; HPLC-ELSD

舒眠片是根据临床验方开发研制而成的中药复方制剂, 由酸枣仁、柴胡、白芍、合欢花等多味中药组成, 具有舒肝解郁、养血柔肝、宁心安神的作用, 临床上用于失眠、多梦易惊、多愁善感或忧郁不乐, 甚则急躁易怒、胸胁苦满或胸膈不畅等^[1-3]。为了有效地控制该制剂的质量, 本研究对舒眠片处

方中柴胡、白芍进行薄层色谱法定性鉴别, 对有效成分酸枣仁皂苷 A 进行 HPLC-ELSD 法测定, 为该制剂的质量控制提供依据。

1 仪器与试药

Agilent 1200 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司); SP—20E 全自动薄层点样仪(河南一诺佳盛仪

收稿日期: 2013-04-23

作者简介: 孟红莲(1980—), 女, 湖南益阳人, 主要从事医院临床药学和中西药调剂工作。Tel: 13007375010 E-mail: 168374548@qq.com

*通信作者 刘新义(1979—), 男, 湖南娄底人, 博士, 主要从事医院新制剂开发研究。Tel: (0731)85292093 E-mail: liuxinyi128@126.com

器设备有限公司); FA1004 电子分析天平 (上海光学仪器一厂)。

舒眠片 (北京长城制药厂生产, 批号 20120901、20120903、20120905); 酸枣仁皂苷 A (供含量测定用, 批号 110734-201107)、柴胡皂苷 a (供含量测定用, 批号 110777-201005)、柴胡皂苷 b (供含量测定用, 批号 110778-200909)、芍药苷 (供含量测定用, 批号 110736-200732) 对照品由中国食品药品检定研究院提供; 甲醇、乙腈 (色谱纯, Tedia 公司); 水为超纯水; 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 舒眠片中柴胡的薄层色谱鉴别^[4]

取本品 10 g, 研碎成粉末, 加甲醇 20 mL, 超声处理 10 min, 滤过, 滤液浓缩至 1 mL, 作为供试品溶液。按照处方配比和工艺制备不含柴胡的舒眠片阴性样品, 按照供试品溶液的制备方法制备阴性样品溶液。再取柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 b 对照品适量, 加甲醇制成质量浓度均为 0.5 mg/mL 对照品溶液。照薄层色谱法操作 (《中国药典》2010 年版一部附录 VIB), 吸取上述 3 种溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以醋酸乙酯 - 乙醇 - 水 (8:2:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 2% 对二甲氨基苯甲醛的 10% 硫酸乙醇溶液, 热风吹至斑点显色清晰, 分别置紫外光灯 (365 nm) 下检视。供试品溶液色谱中, 在与对照品溶液色谱相应的位置上显相同颜色的斑点, 阴性样品色谱相应的位置无干扰。见图 1。

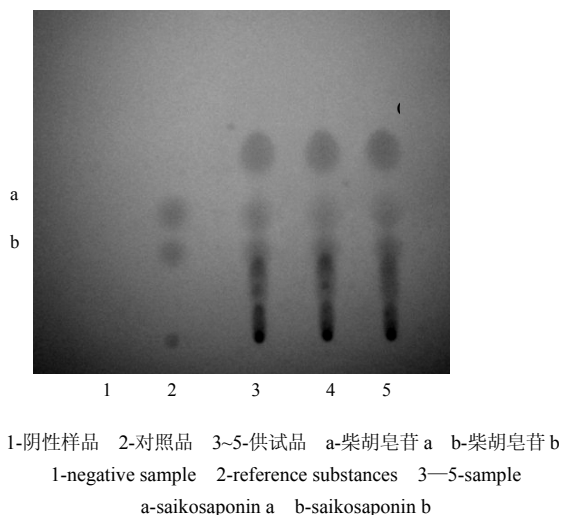


图 1 舒眠片中柴胡的薄层色谱图

Fig. 1 TLC chromatogram of *Bupleuri Radix* in Shumian Tablets

2.2 舒眠片中白芍的薄层色谱鉴别^[5]

取本品 10 g, 研碎成粉末, 加乙醇 10 mL, 振摇 5 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加乙醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。按照处方配比和工艺制备不含白芍的舒眠片阴性样品, 按照供试品溶液的制备方法制备阴性样品溶液。另取芍药苷对照品适量, 加乙醇制成 1 mg/mL 溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法操作 (《中国药典》2010 年版一部附录 VIB), 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, 以三氯甲烷 - 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。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上显相同的蓝紫色斑点, 阴性样品色谱相应的位置无干扰。见图 2。

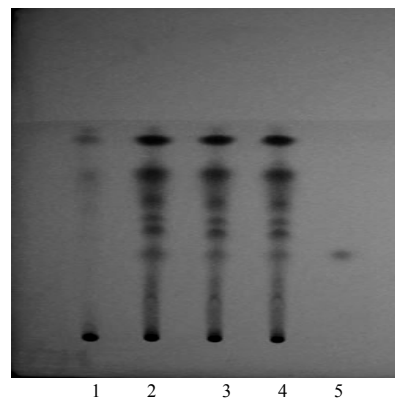


图 2 舒眠片中白芍的薄层色谱图

Fig. 2 TLC chromatogram of *Paeoniae Alba Radix* in Shumian Tablets

3 酸枣仁皂苷 A 的 HPLC-ELSD 法测定

3.1 色谱条件^[6-7]

Diamonsil C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈 (A) - 0.1% 磷酸水 (B) 溶液, 梯度洗脱, 梯度洗脱程序: 0~3 min, 13%→21%A, 4~6 min, 21%→35%A, 6~8 min, 35%→13%A, 8~10 min, 13%A; 体积流量: 1 mL/min; 进样量: 10 μ L; 漂移管温度: 105 $^{\circ}$ C; 气体流量: 2.8 L/min。

3.2 溶液的制备

3.2.1 对照品溶液的制备 精密称取酸枣仁皂苷 A 对照品适量, 加甲醇配制成 50 μ g/mL 对照品溶液,

即得。

3.2.2 供试品溶液的制备^[8] 取本品 50 片, 研碎成粉末, 精密称定 8 g, 置洁净烧杯中, 采用移液管精密量取 0.05 mg/mL 氢氧化钠溶液 25 mL, 振荡 15 min, 再全部转移至分液漏斗中, 采用乙醚液进行脱脂处理 (3 次, 每次 30 mL), 弃去乙醚层, 分取下层溶液, 再以水饱和正丁醇进行萃取 (3 次, 每次 30 mL), 合并正丁醇溶液, 再用正丁醇饱和水进行洗涤 (2 次, 每次 10 mL), 水浴蒸干正丁醇液, 残渣置 10 mL 量瓶中, 以甲醇溶解并加至刻度, 即得。

3.2.3 阴性样品溶液的制备 按处方配比称取除酸枣仁外的其他药材, 按制备工艺制成缺酸枣仁的阴性样品, 再以供试品溶液的制备方法制备缺酸枣仁的阴性样品溶液。

3.3 专属性试验

分别吸取酸枣仁皂苷 A 对照品溶液、舒眠片供试品溶液、缺酸枣仁的阴性样品溶液各 10 μ L, 注入高效液相色谱仪, 进样测定, 记录色谱图, 结果见图 3。供试品色谱图中, 在酸枣仁皂苷 A 的保留时间处有 1 个化学组分峰, 且与其他组分分离度良好, 阴性样品也无干扰。

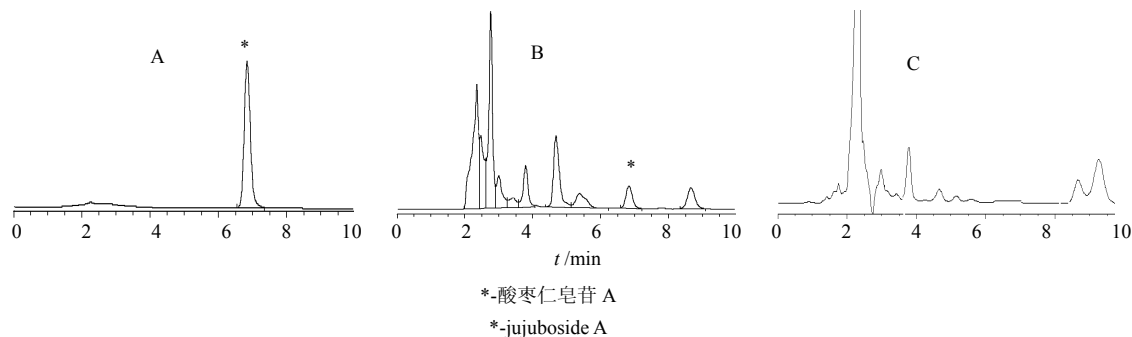


图 3 酸枣仁皂苷 A 对照品 (A)、舒眠片供试品 (B) 和阴性对照 (C) 的高效液相色谱图

Fig. 3 HPLC chromatograms of jujuboside A reference substance (A), Shumian Tablets sample (B), and negative sample (C)

3.4 线性关系考察

精密称取酸枣仁皂苷 A 对照品 15 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加乙腈至刻度, 配制 0.3 mg/mL 对照品储备液。采用移液管精密吸取对照品储备液适量, 再以乙腈稀释, 配制 20、40、60、80、100、120 μ g/mL 酸枣仁皂苷 A 系列对照品溶液, 按上述色谱条件下分别进样, 进样量 10 μ L, 记录峰面积。分别以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 制作标准曲线, 得回归方程 $Y = 1542X - 13.57$, $r = 0.9998$, 结果表明酸枣仁皂苷 A 在 20~120 μ g/mL 与峰面积的线性关系良好。

3.5 精密度试验

精密吸取 80 μ g/mL 酸枣仁皂苷 A 对照品溶液 10 μ L, 连续进样 6 次, 记录色谱图, 测定酸枣仁皂苷 A 峰面积, 计算, 结果酸枣仁皂苷 A 峰面积的 RSD 值为 0.62%。

3.6 重复性试验

精密称取同一批号 (批号为 20120903) 的舒眠片样品 6 份, 每份约 8 g, 制备供试品溶液, 在上述色谱条件下进样 10 μ L, 记录色谱图, 测定酸枣仁皂苷 A 峰面积, 并计算该批号样品中酸枣仁皂苷 A

的质量分数, 结果酸枣仁皂苷 A 质量分数的 RSD 值为 0.96%。

3.7 稳定性试验

取同一舒眠片样品 (批号为 20120903), 制备供试品溶液, 室温下分别在 0、2、4、6、8、12 h 进样, 每次进样量为 10 μ L, 测定酸枣仁皂苷 A 峰面积值, 结果酸枣仁皂苷 A 峰面积的 RSD 值为 1.24%, 表明供试品溶液在 12 h 内基本稳定。

3.8 回收率试验

取舒眠片样品 (批号为 20120903) 共 6 份, 各约 8.0 g, 精密称定, 分别加入 0.3 mg/mL 酸枣仁皂苷 A 对照品储备液 2 mL, 制备供试品溶液, 按照样品分析方法处理, 并各平行测定 2 次, 计算, 结果酸枣仁皂苷 A 的平均回收率为 99.75%, RSD 值为 0.34%。

3.9 样品测定

分别取 3 个批号的舒眠片样品, 制备供试品溶液, 按照上述色谱条件进样测定, 每个批号平行 3 份样品进行, 并采用标准曲线法以回归方程计算各批样品中酸枣仁皂苷 A 的质量分数, 以各批号平行测定结果的均值计入结果, 见表 1。

表 1 舒眠片样品中酸枣仁皂苷 A 的测定结果 ($n=3$)Table 1 Determination of jujuboside A in Shumian Tablets samples ($n=3$)

批 号	酸枣仁皂苷 A/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
20120901	80.9
20120903	81.4
20120905	79.8

4 讨论

对舒眠片中柴胡、白芍药材进行薄层色谱定性鉴别,结果各自的阴性样品无干扰,斑点清晰、分离良好、无拖尾现象、稳定可靠,具有较强的操作性,可作为舒眠片质量控制的定性鉴别方法。

在酸枣仁有效成分酸枣仁皂苷 A 的提取过程中,曾考虑选择碱提,再采用醋酸乙酯进行萃取,结果发现萃取率较底,且存在严重干扰。最终结合文献报道方法^[9]和《中国药典》方法,以乙醚脱脂,正丁醇萃取酸枣仁皂苷类成分。选择乙腈-0.1%磷酸水溶液进行梯度洗脱,发现样品中酸枣仁皂苷 A 提取率较高,且峰型对称,分离度良好,基线平稳,保留时间也比较合理,并且阴性样品无干扰,故选

择该样品处理方法和流动相条件。

参考文献

- [1] 龚越鹏,邵 辉,夏小玉,等. 舒眠片治疗失眠症 30 例 [J]. 陕西中医, 2012, 33(11): 1476.
- [2] 陆爱益,潘羽飏,曹永康. 舒眠胶囊治疗失眠症对照观察 [J]. 海南医学, 2008, 19(5): 70-71.
- [3] 杨伟芳,陈统猷,褚文浩,等. 舒眠胶囊治疗神经衰弱 320 例 [J]. 中国药业, 2012, 21(12): 97-98.
- [4] 薛吉利,丁 红,杜 艳,等. 小柴胡片中柴胡和党参的薄层鉴别 [J]. 中国药物与临床, 2012, 12(11): 1445-1446.
- [5] 肖 薇,黄 健,李 洋,等. 颈椎康复丸质量标准研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2012, 19(8): 59-61.
- [6] 高家荣,周 丽,韩燕全,等. HPLC 法测定酸枣仁与五味子配伍前后酸枣仁皂苷 A 和五味子醇甲 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(7): 38-41.
- [7] 杨务彬,兰 鸿,李元宏. 高效液相色谱法-蒸发光散射检测器测定安神胶囊中酸枣仁皂苷 A 和 B 的含量 [J]. 中国医药指南, 2009, 7(17): 34-35.
- [8] 陈 鑫,永 刚,王耀欣,等. HPLC 法同时测定大枣中芦丁和酸枣仁皂苷 B 的含量 [J]. 中国药房, 2010, 21(3): 247-248.
- [9] 陈洪英,刘显锋. 酸枣仁颗粒质量标准研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(13): 77-79.