

液,在 0、2、4、6、8 h 点进样分析,测得峰面积值,阿魏酸、肉桂酸、桂皮醛、木香烃内酯和去氢木香内酯质量分数的 RSD 分别为 2.91%、1.31%、1.24%、0.91%、1.06%,表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.5.6 加样回收率试验:精密称取批号为 061003 的供试品 1.5 g 共 6 份,分别精密加入 10 mL 混合对照品溶液,按“供试品溶液的制备”项下方法制备供试品溶液,按上述测定方法进行测定,计算回收率。结果阿魏酸、肉桂酸、桂皮醛、木香烃内酯和去氢木香内酯的回收率分别为 98.54%、99.21%、100.01%、99.12%、98.20%,RSD 分别为 1.08%、1.03%、1.17%、1.24%、1.36%。

2.5.7 样品的测定:取 3 个批号的痛经宝颗粒,制备供试品溶液,每批平行 3 份,每份进样 2 次,以回归方程计算各成分的质量分数,结果见表 1。

表 1 样品测定结果

Table 1 Determination results

批号	阿魏酸/ (mg·g ⁻¹)	肉桂酸/ (mg·g ⁻¹)	桂皮醛/ (mg·g ⁻¹)	木香烃内酯/ (mg·g ⁻¹)	去氢木香内酯/ (mg·g ⁻¹)
061003	0.1812	0.0988	0.8953	0.1448	0.1695
060708	0.1743	0.1014	0.9036	0.1503	0.1842
070604	0.1972	0.1129	0.9127	0.1678	0.1915

3 讨论

3.1 本实验建立了高效液相色谱法同时测定痛经宝颗粒中阿魏酸、肉桂酸、桂皮醛、木香烃内酯和去氢木香内酯 5 个成分的方法,为全面控制痛经宝制剂中与药效相关物质基础的质量提供了方法,为解析痛经宝药效物质基础创造了条件,丰富了组分结构理论。

3.2 为了尽可能全面反映痛经宝颗粒的化学信息,实验对供试品溶液的制备方法进行考察。选择甲醇、50% 甲醇、水进行提取,结果 50% 甲醇提取的样

品信息量较多,峰面积较大;选择回流、超声提取方法进行了比较,结果超声法所得峰面积为回流法的 95% 以上,考虑到操作的方便性,确定选择超声法;选择不同超声提取次数,结果 1 次超声 30 min 即能提取完全。

3.3 通过分别对 5 个对照品溶液的紫外波长扫描显示,阿魏酸、肉桂酸、桂皮醛、木香烃内酯和去氢木香内酯的最大吸收波长分别为 320、274、290、225、225 nm,实验过程中发现在 225 nm 处,所需检测的各峰分离度及峰形均佳,灵敏度也较高,所以检测波长选择 225 nm。

3.4 试验中选用多种流动相进行分析,如甲醇-水、甲醇-0.04% 磷酸水、甲醇-0.1% 磷酸水、乙腈-水、乙腈-0.04% 磷酸水。经多次试验,选择乙腈-0.04% 磷酸水,并反复调整洗脱程序,最终以本研究中的梯度洗脱程序来分离样品,所检测的 5 个成分的分离效果,保留时间及理论塔板数都较为理想。

参考文献:

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2005
- [2] 王富丽,袁振营,陈洪英. 高效液相色谱法测定痛经宝颗粒中阿魏酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2001, 7(2): 15-16
- [3] 杨晓秋,张明林. RP-HPLC 法测定痛经宝颗粒中延胡索乙素的含量[J]. 医药产业资讯, 2006, 3(20): 138-139
- [4] 施亚芳,贾晓斌,范晨怡,等. 痛经宝胶囊的质量标准研究[J]. 中成药, 2008, 30(3): 451-452
- [5] 贾晓斌,陈彦,李霞,等. 中药复方物质基础研究新思路和方法[J]. 中华中医药杂志, 2008, 23(5): 420-425
- [6] 施峰,贾晓斌,陈彦,等. 中医方药物质基础名词术语标准化探讨[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(9): 1179-1181
- [7] 王丽静. 痛经宝处方优化及其微丸制剂学研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2009
- [8] Ogiwara T, Satoh K, Kadoma Y, et al. Radical scavenging activity and cytotoxicity of ferulic acid [J]. Anticancer Res, 2002, 22(5): 2711-2717
- [9] 董万超. 肉桂的利用及药理作用[J]. 特种经济动植物, 2001(6): 431
- [10] 王峻,肖洪彬. 木香抗实验性胃溃疡的药效学研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2008

鼻渊舒软胶囊的质量标准研究

解学星^{1,2}, 胡雅萍³, 刘毅², 刘素香², 高文远^{1*}, 陈常青²

(1 天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072; 2 天津药物研究院, 天津 300193;

3 天津药物研究院药业有限责任公司, 天津 300193)

摘要: 目的 建立鼻渊舒软胶囊的质量标准, 控制制剂的质量。方法 采用薄层色谱法对制剂中组成药味白芷、栀子、川芎进行鉴别, 并建立方法学考察, 采用 HPLC 法测定制剂中的栀子苷。结果 白芷、栀子、川芎的薄层色谱中阴性对照无干扰。栀子苷在 0.086 9~1.737 6 μg 与峰面积呈良好的线性关系, 平均回收率为 99.78%, RSD 为 0.81%。结论 建立的薄层色谱和高效液相色谱定性、定量方法可以用来控制鼻渊舒软胶囊的质量, 方法简便可行。

关键词: 鼻渊舒软胶囊; 白芷; 栀子; 川芎; 薄层色谱; 栀子苷; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)10-1645-04

鼻渊舒软胶囊处方源于《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂标准册,由辛夷、苍耳子、栀子、黄芩、黄芪、川芎、柴胡、细辛、薄荷、川木通、茯苓、白芷、桔梗13味中药组成,具有疏风清热、祛湿通窍的功效,用于急性鼻炎肺经风热证、急性鼻窦炎胆腑郁热证^[1]。原标准中有黄芪、栀子、黄芩、栀子的薄层色谱鉴别,本实验选用了多种展开剂进行展开,将能排除干扰、重复性好的白芷薄层鉴别方法筛选出来,增加到质量标准中。栀子为本品中主药之一,栀子苷为栀子主要活性成分之一,故本实验选择栀子苷作为控制本品质量的指标成分。因此本实验建立了鼻渊舒软胶囊中白芷、栀子和川芎的薄层色谱鉴别方法,对本品中栀子苷进行HPLC法定量分析,建立了该产品的质量标准定量控制方法,结果该方法简便、重复性好。

1 仪器和试剂

惠普 HP1100 高效液相色谱仪, Sartorius BP211D 电子天平(感量 0.1 mg、0.01 mg), USC-502 超声波清洗器, TU-11901 紫外分光光度计, RE-52 型旋转蒸发仪(天津第一玻璃厂)。

白芷对照药材、栀子苷对照品(批号 110749-200410)、川芎对照药材由中国药品生物制品检定所提供, YDW-09 型大孔树脂由沧州远威化工有限公司提供, 氯仿、甲醇、乙醇等试剂均为分析纯, 去离子水。

2 方法与结果

2.1 鼻渊舒软胶囊中白芷的 TLC 鉴别^[2]

2.1.1 供试品溶液的制备: 取鼻渊舒软胶囊 15 粒, 剪开, 倾出内容物, 加水 20 mL, 加热提取, 放冷, 通过 YDW-09 型大孔树脂柱(树脂高 15 cm, 内径 1.5 cm), 用 50 mL 水洗脱, 弃去水液, 再用 40% 乙醇 50 mL 洗脱, 弃去 40% 乙醇洗脱液, 继用 95% 乙醇 80 mL 进行洗脱, 收集洗脱液, 浓缩至干, 回收乙醇, 残渣加醋酸乙酯微热提取 2 次(20、15 mL), 醋酸乙酯液低温蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 即得。

2.1.2 对照药材溶液的制备: 取白芷对照药材 1 g, 加氯仿 30 mL, 超声处理 20 min, 滤过, 滤液低温挥干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 即得。

2.1.3 阴性对照溶液的制备: 按处方取缺白芷的各味药材, 按制备方法制成浸膏粉, 取浸膏粉适量, 加氯仿 30 mL 超声处理提取, 滤过, 氯仿液低温蒸干,

残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 即得。

2.1.4 TLC 鉴别与结果: 照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 VIB) 试验, 吸取供试品溶液 10 μ L、对照药材溶液和阴性对照溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 GF254 薄层板上, 以醋酸乙酯-氯仿-乙醚(2:1:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(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, 显相同颜色的荧光斑点, 阴性对照色谱中无此斑点。见图 1。

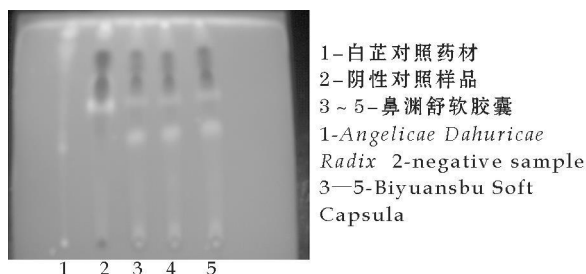


图1 鼻渊舒软胶囊中白芷的 TLC 鉴别

Fig 1 TLC Chromatograms of *Angelicae Dahuricae Radix* in Biyuanshu Soft Capsula

2.2 鼻渊舒软胶囊中栀子的 TLC 鉴别^[3]

2.2.1 供试品溶液的制备: 取鼻渊舒软胶囊 5 粒, 剪开, 倾出内容物, 加入硅藻土 2 g, 研匀, 加氯仿超声处理 2 次, 每次 20 mL, 10 min, 滤过, 滤液弃去, 残渣挥干加水 20 mL, 加热溶解, 放冷, 离心, 取上清液移入分液漏斗中, 用水饱和正丁醇振摇提取 2 次(15、10 mL), 合并正丁醇液, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 取上清液, 即得。

2.2.2 对照品溶液的制备: 取栀子苷对照品适量, 加甲醇制成 1 mg/mL 的溶液, 即得。

2.2.3 阴性对照溶液的制备: 按处方取缺栀子的各味药材, 按制备方法制成浸膏粉, 取浸膏粉适量, 依照供试品溶液的制备项下方法操作, 即得。

2.2.4 TLC 鉴别与结果: 照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 VIB) 试验, 吸取供试品溶液、对照品溶液和阴性对照溶液各 5 μ L, 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-甲醇(5:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。结果供试品色谱中, 在与栀子苷对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色(紫红色) 的斑点, 阴性对照色谱中无此斑点。见图 2。

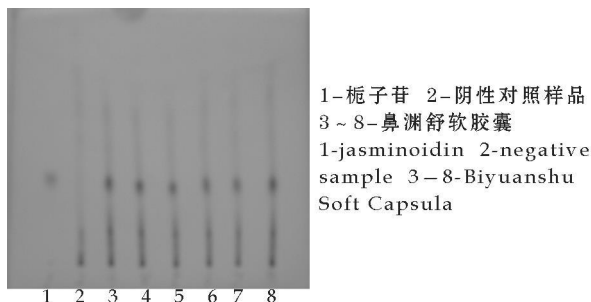


图 2 鼻渊舒软胶囊中栀子的 TLC 鉴别

Fig 2 TLC Chromatograms of *Gardeniae Fructus* in Biyuanshu Soft Capsula2.3 鼻渊舒软胶囊中川芎的 TLC 鉴别^[4]

2.3.1 供试品溶液的制备: 取鼻渊舒软胶囊 15 粒, 剪开, 倾出内容物, 加水 20 mL, 加热溶解, 放冷, 通过 YDW-09 型大孔树脂柱(树脂高 15 cm, 内径 1.5 cm), 用水 50 mL 洗脱, 弃去水液, 再用 40% 乙醇 50 mL 洗脱, 弃去 40% 乙醇洗脱液, 继用 95% 乙醇 80 mL 进行洗脱, 收集洗脱液, 浓缩至干, 回收乙醇, 残渣加醋酸乙酯微热提取 2 次(20、15 mL), 醋酸乙酯液低温蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 即得。

2.3.2 对照药材溶液的制备: 取川芎对照药材 0.5 g, 加氯仿 30 mL, 超声处理 20 min, 滤过, 滤液低温挥干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 即得。

2.3.3 阴性对照溶液的制备: 按处方取缺川芎的各味药材, 按制备方法制成浸膏粉, 取浸膏粉适量, 加氯仿 30 mL 超声处理提取, 滤过, 氯仿液低温蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 即得。

2.3.4 TLC 鉴别与结果: 照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 VIB) 试验, 吸取供试品溶液 10 μ L, 对照药材溶液和阴性对照溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上, 以苯-醋酸乙酯-冰醋酸(6:4:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365 nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 阴性对照色谱中无此斑点。见图 3。

2.4 栀子苷的 HPLC 法测定

2.4.1 色谱条件: Irregular 不锈钢柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 10 μ m) (天和色谱实验室); 流动相: 甲醇-水(28:72); 检测波长 239 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 $^{\circ}$ C; 进样体积 20 μ L; 灵敏度: 0.1 AUFS。

2.4.2 对照品溶液的制备: 精密称取栀子苷对照品 5.43 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品贮备液。精密吸取对照品贮备

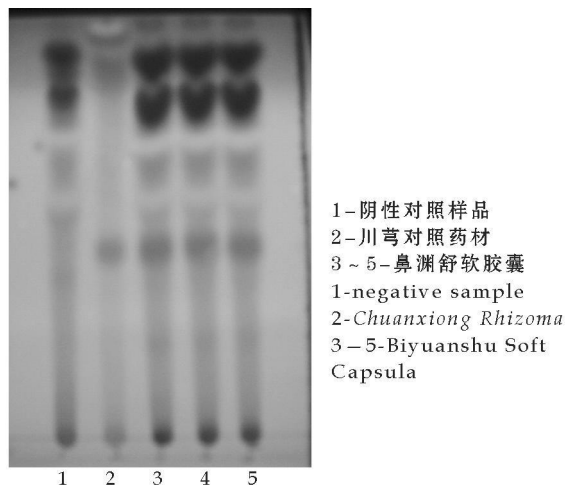


图 3 鼻渊舒软胶囊中川芎的 TLC 鉴别

Fig 3 TLC Chromatograms of *Chuanxiong Rhizoma* in Biyuanshu Soft Capsula

液 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。

2.4.3 供试品溶液的制备: 取装量差异项下的本品, 研匀, 取约 0.2 g, 精密称定, 置 100 mL 锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 50 mL, 称定质量, 加热使溶解, 放冷, 称定质量, 用 50% 甲醇补足减失的质量, 摇匀; 过 0.5 μ m 有机膜, 弃去初滤液, 取续滤液, 作为供试品溶液。

2.4.4 阴性对照溶液的制备: 按本品处方及工艺制备缺栀子的样品, 照供试品溶液的制备项下方法处理, 即得阴性供试品溶液。

2.4.5 线性范围的考察: 分别精密量取 0.217 2 mg/mL 栀子苷对照品贮备液 0.2、1.0、2.0、3.0、4.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 用 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 分别进样 20 μ L, 记录色谱图, 读取峰面积, 以进样质量为横坐标, 峰面积为纵坐标作图, 得回归方程 $Y = 1586.3X - 5082.4$ ($r = 1.0000$)。结果表明进样量在 0.086 9~1.737 6 μ g 与峰面积呈良好的线性关系。

2.4.6 专属性试验: 在选定的条件下, 分别取供试品溶液、对照品溶液和阴性对照溶液各 20 μ L, 注入液相色谱仪, 记录色谱图。结果表明阴性对照在栀子苷色谱峰位置处无相应峰出现, 对测定结果无影响。见图 4。

2.4.7 精密度试验: 取鼻渊舒软胶囊样品(批号 050128) 1 份, 制备供试品溶液, 连续进样 6 次, 在上述色谱条件下记录栀子苷的峰面积, 计算 RSD 值, 结果 RSD 值为 0.08%。

2.4.8 稳定性试验: 取鼻渊舒软胶囊样品(批号

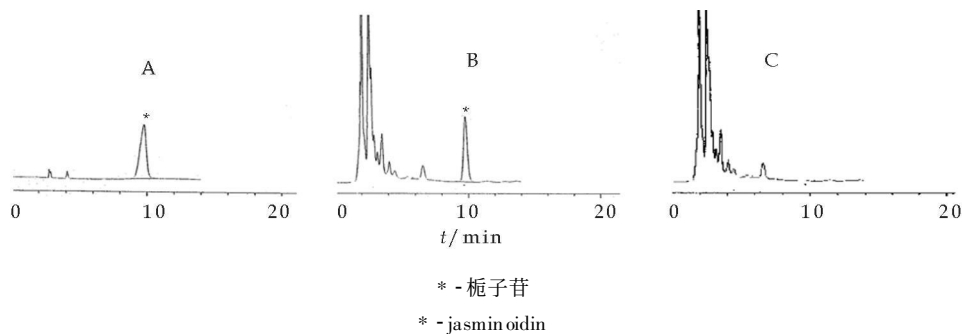


图 4 梔子苷对照品(A)、鼻渊舒软胶囊供试品(B)和阴性对照(C)的 HPLC 图谱

Fig 4 HPLC Chromatograms of jasminoidin reference substance (A), Biyuanshu Soft Capsula (B), and negative sample (C)

050128) 1 份, 制备供试品溶液, 同时取一定质量浓度的梔子苷对照品溶液, 分别在 0、1、2、4、8、12、24 h 进样测定, 计算 RSD, 结果对照品中梔子苷峰面积 RSD 值为 0.22%; 样品中梔子苷峰面积 RSD 值为 0.13%, 表明对照品溶液和供试品溶液在室温放置 24 h 内稳定。

2.4.9 重现性试验: 取批号 050128 鼻渊舒软胶囊样品, 研匀, 精密称取 6 份, 制备供试品溶液, 进行测定梔子苷峰面积, 并计算梔子苷的质量分数, 结果梔子苷的平均质量分数为 6.22 mg/g, RSD 值为 0.36%。

2.4.10 回收率试验: 取批号 050128 鼻渊舒软胶囊样品内容物约 0.1 g, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 加入 0.230 4 mg/mL 梔子苷对照品溶液 2.0 mL, 精密加入 50% 甲醇 50 mL, 制备供试品溶液, 进样, 测定, 计算回收率, 结果平均回收率为 99.78%, RSD 值为 0.81% (n=6)。

2.4.11 样品的测定结果: 取批号 050128、050129、050130 鼻渊舒软胶囊样品, 制备供试品溶液。取供试品溶液和梔子苷对照品溶液各 20 μ L, 进样测定, 采用外标法计算梔子苷的质量分数, 结果见表 1。

表 1 鼻渊舒软胶囊中梔子苷的测定结果 (n=2)

Table 1 Determination of jasminoidin in Biyuanshu Soft Capsula (n=2)

批号	梔子苷/(mg·g ⁻¹)
050128	6.19
050129	6.14
050130	6.25

鼻渊舒软胶囊为依照已有国家标准的品种鼻渊舒胶囊的改剂型品种, 提取工艺与原工艺一致, 工艺为无质的改变。《中国药典》2005 年版一部规定梔子药材中含梔子苷不得低于 1.8%。鼻渊舒胶囊质量标准中规定含有梔子苷不得少于 3.5 mg/粒, 故暂定本品中含有梔子苷也不得少于 3.5 mg/粒。

3 讨论

3.1 最大吸收波长的选择^[5]: 取梔子苷对照品溶液适量, 加流动相制成的质量浓度为 0.04 mg/mL 对照品溶液, 在 200~400 nm 波长测定紫外吸收光谱。结果在 239.5 nm 处有最大吸收峰, 因此选择 239 nm 作为测定波长。

3.2 供试品溶液的制备条件的考察: 取样品分别加入 50% 甲醇、70% 甲醇, 采用振摇、超声和温水浴上溶解的不同提取方法进行处理, 放置室温, 称定质量, 用原溶剂补足质量, 摇匀。取上清液滤过, 取续滤液进行测定, 结果振摇、超声、加热溶解 3 种方法无显著性差异, 但是供试品溶液的加热溶解较超声处理容易滤过, 故选定快速、方便的加热溶解作为样品的提取方法, 同时采用 50% 甲醇作为提取溶剂。

参考文献:

[1] 国家药品标准[S]. 2002ZF0238 2002
[2] 焦 杨. 白芷糊的制备及质量标准研究[J]. 天津药学, 1997, 9(1): 38-39
[3] 王志朝, 丁志民, 张孟佑, 等. 三子胶囊的制备及质量标准研究[J]. 中国药房, 2007, 18(9): 665-666
[4] 王文燕, 赵 强, 张铁军, 等. 川芎药材的 HPLC 指纹图谱及模式识别研究[J]. 中草药, 2009, 40(12): 1980-1984
[5] 卢智玲, 汪国华, 刘华栋, 等. RP-HPLC 测定六味木香片中梔子苷的含量[J]. 中成药, 2005, 27(2): 218-219