

## 舒天宁颗粒质量标准研究

浦香兰<sup>1</sup>, 李松<sup>1</sup>, 李鹏<sup>2</sup>

(1. 江阴天江药业有限公司, 江苏 江阴 214434; 2. 南京中医药大学, 江苏 南京 210029)

**摘要:**目的 建立舒天宁颗粒(天麻、栀子、川芎等)质量标准。方法 采用 TLC 法对方中天麻、栀子、川芎进行定性鉴别; 采用 HPLC 法测定制剂中天麻素的量。结果 TLC 法能特异性地鉴别天麻、栀子、川芎。天麻素在 0.344~1.720  $\mu\text{g}$  线性关系良好,  $r=0.9999$ ; 加样回收率为 97.65%, RSD 为 1.17%。结论 所建立的方法可准确地进行定性、定量检测, 操作简便, 专属性强, 重现性好, 可作为该颗粒的质量控制标准。

**关键词:**舒天宁; TLC; HPLC; 天麻素; 质量标准

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1674-5515(2009)02-0105-04

## Research on quality standard of Shutianning Granules

PU Xiang-lan<sup>1</sup>, LI Song<sup>1</sup>, LI Peng<sup>2</sup>

(1. Jiangyin Tianjiang Pharmaceutical Co., Ltd., Jiangyin 214434, China; 2. Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

**Abstract:** **Objective** To establish the quality standard of Shutianning Granules (*Rhizoma Gastrodiae*, *Fructus Gardeniae*, and *Rhizoma Chuanxiong*). **Methods** *Rhizoma Gastrodiae*, *Fructus Gardeniae*, and *Rhizoma Chuanxiong* were identified by TLC. Gastrodin was assayed by HPLC. **Results** *Rhizoma Gastrodiae*, *Fructus Gardeniae*, and *Rhizoma Chuanxiong* could be specifically identified by TLC. Gastrodin showed a good linear relationship at the range of 0.344–1.720  $\mu\text{g}$  ( $r=0.9999$ ). The average recovery of sample was 97.65%, RSD=1.17%. **Conclusion** The established method is simple, accurate, specific and reproducible, and suitable for the quality control of Shutianning Granules.

**Key words:** Shutianning; TLC; HPLC; gastrodin; quality standard

舒天宁颗粒是由天麻、栀子、川芎等中药经现代工艺加工而成的颗粒剂, 具有平肝熄风、止痉、泻火除烦等功效, 主要用于偏头痛, 并伴有眩晕、心烦、失眠、易怒等症的治疗。该剂为医院制剂, 原质量标准仅有简单的理化鉴别, 不能全面控制产品的内在质量。为保证该制剂的质量稳定、均一, 确保临床用药安全有效, 应用 TLC 法建立了天麻、栀子、川芎的鉴别方法, 采用 HPLC 法对天麻中主要有效成分天麻素(gastrodin)进行测定<sup>[1]</sup>。经实验证明, 该法简便快捷, 专属性强, 结果满意, 可作为该制剂的内控质量标准。

### 1 仪器与试药

#### 1.1 仪器

LC-10AT 高效液相色谱仪(日本岛津公司); SPD-10A 紫外-可见检测器(日本岛津公司); N-2000 色谱工作站(浙江大学智能信息工程研究所); CAMAG REPROSTAR3 薄层成像系统(瑞士

CAMAG 公司); 超声清洗机(苏州昆山超声电子设备厂)。

#### 1.2 试药

天麻素(807-200104)、栀子苷(110749-200309)、阿魏酸(0773-9910)对照品均购自中国药品生物制品检定所; 硅胶 G(青岛海洋化工厂), 乙腈为色谱纯, 水为重蒸馏水, 其他试剂均为分析纯; 舒天宁颗粒(批号: 080201、080202、080203)及阴性对照样品均由江阴天江药业有限公司提供。

### 2 方法与结果

#### 2.1 定性鉴别

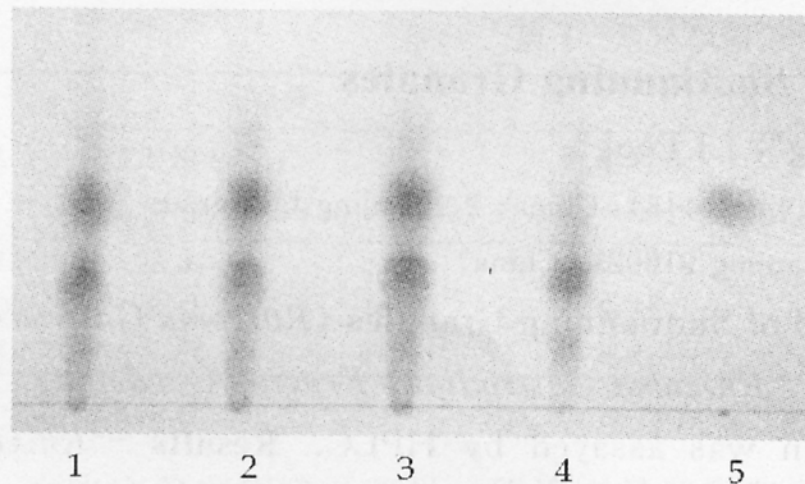
按照《中国药典》2005 年版一部附录 VI 的要求, 采用 TLC 法分别鉴别了天麻、栀子和川芎。

##### 2.1.1 天麻的薄层鉴别<sup>[2-3]</sup>

取舒天宁颗粒 1 g, 加水饱和正丁醇 30 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液蒸干。残渣加水 2 mL 使溶解, 通过 D<sub>101</sub> 型大孔吸附树脂(10 cm×2 cm), 用



10%乙醇 30 mL、70%乙醇 25 mL 依次洗脱,分别收集洗脱液,将 10%乙醇液蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取不含天麻的阴性对照样品 1 g,同法制成阴性对照溶液。再取天麻素对照品适量,加甲醇制成 1 mg/mL 的溶液,作为对照品溶液。吸取上述供试品及阴性对照溶液各 10  $\mu$ L,对照品溶液 5  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,用三氯甲烷-醋酸乙酯-甲醇-甲酸(8:1:3:0.1)展开,取出,晾干,喷以 10%磷钼酸乙醇液,在 105  $^{\circ}$ C 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颜色的斑点;而阴性对照则无此斑点干扰;见图 1。



1~3-供试品 4-阴性对照品 5-天麻素

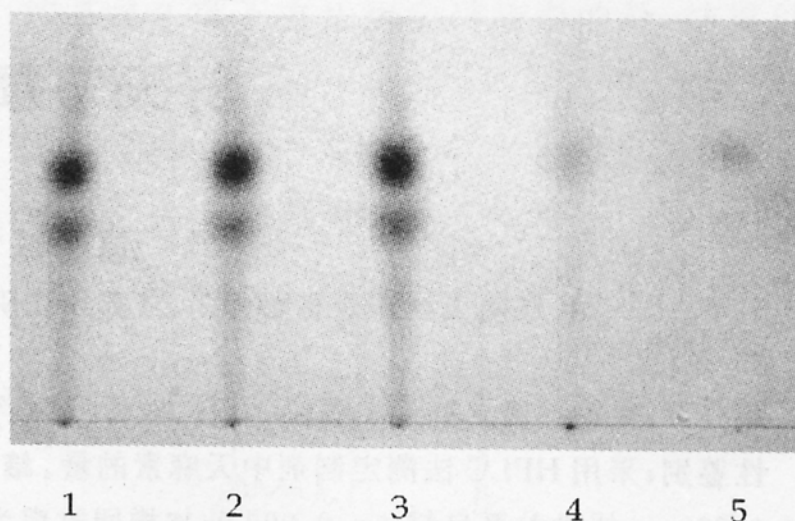
图 1 舒天宁颗粒中天麻的 TLC 图

### 2.1.2 栀子的薄层鉴别

取上述鉴别项下的 70%乙醇洗脱液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取不含栀子的阴性对照样品 1 g,同法制成阴性对照溶液。再取栀子苷对照品适量,加甲醇制成 1 mg/mL 的溶液,作为对照品溶液。吸取上述供试品及阴性对照溶液各 10  $\mu$ L,对照品 5  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,用醋酸乙酯-丙酮-甲酸-水(5:5:1:1)展开,取出,晾干,喷以 10%硫酸乙醇液,在 105  $^{\circ}$ C 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颜色的斑点;而阴性对照则无此斑点干扰;见图 2。

### 2.1.3 川芎的薄层鉴别

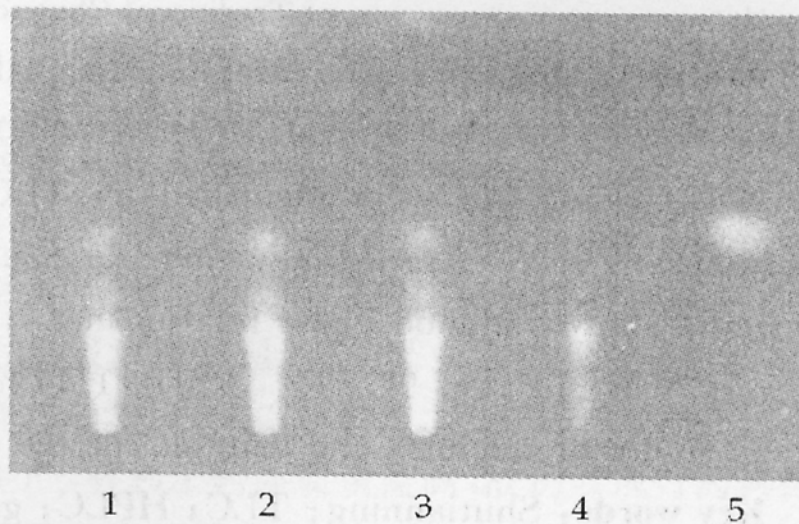
取舒天宁颗粒 1 g,加 1%碳酸氢钠溶液 50 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液用稀盐酸调节 pH2,再用乙醚振摇提取 2 次,每次 20 mL,合并乙醚液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取不含川芎的阴性对照样品 1 g,同法制成阴性对照溶液。再取阿魏酸对照品,加甲醇制成 1 mg/mL 溶液,作为对照品溶液。吸取上述 3 种溶液



1~3-供试品 4-阴性对照品 5-栀子苷

图 2 舒天宁颗粒中栀子的 TLC 图

各 10  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,用苯-醋酸乙酯-甲酸(4:1:0.1)展开,取出,晾干,置紫外光(365 nm)灯下检视。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荧光斑点;而阴性对照则无此斑点干扰;见图 3。



1~3-供试品 4-阴性对照 5-阿魏酸

图 3 舒天宁颗粒中川芎的 TLC 图

## 2.2 天麻素的测定

### 2.2.1 色谱条件

色谱柱:Kromasil ODS  $C_{18}$  柱(200 mm $\times$ 4.6 mm,5  $\mu$ m,中国科学院大连化学物理研究所);流动相:乙腈-0.05%磷酸溶液(3:97);检测波长:220 nm;柱温:室温。理论板数按天麻素峰计应不低于 2 000。

### 2.2.2 对照品溶液的制备

精密称取天麻素对照品适量,加流动相制成 0.1 mg/mL 的溶液,即得。

### 2.2.3 供试品溶液的制备

取舒天宁颗粒约 1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入稀乙醇 25 mL,称定质量,超声处理(功率 250 W,频率 50 kHz)30 min,放冷,再称定质量,用稀乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液 5 mL,蒸干,残渣加乙腈-水(3:97)混合溶液溶解,转



移至5 mL量瓶中,并用乙腈-水(3:97)混合溶液稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,离心,即得。

#### 2.2.4 阴性对照溶液的制备

取不含天麻的舒天宁颗粒约1 g,精密称定,按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。

#### 2.2.5 干扰试验

分别精密吸取天麻素对照品溶液、供试品溶液及阴性对照溶液各10  $\mu$ L,注入液相色谱仪,按2.2.1项下色谱条件测定。结果显示,供试品溶液色谱峰中,在与天麻素对照品相应的保留时间有吸收峰,而阴性对照溶液在相应的保留时间无吸收峰出现,说明阴性对照无干扰。见图4。

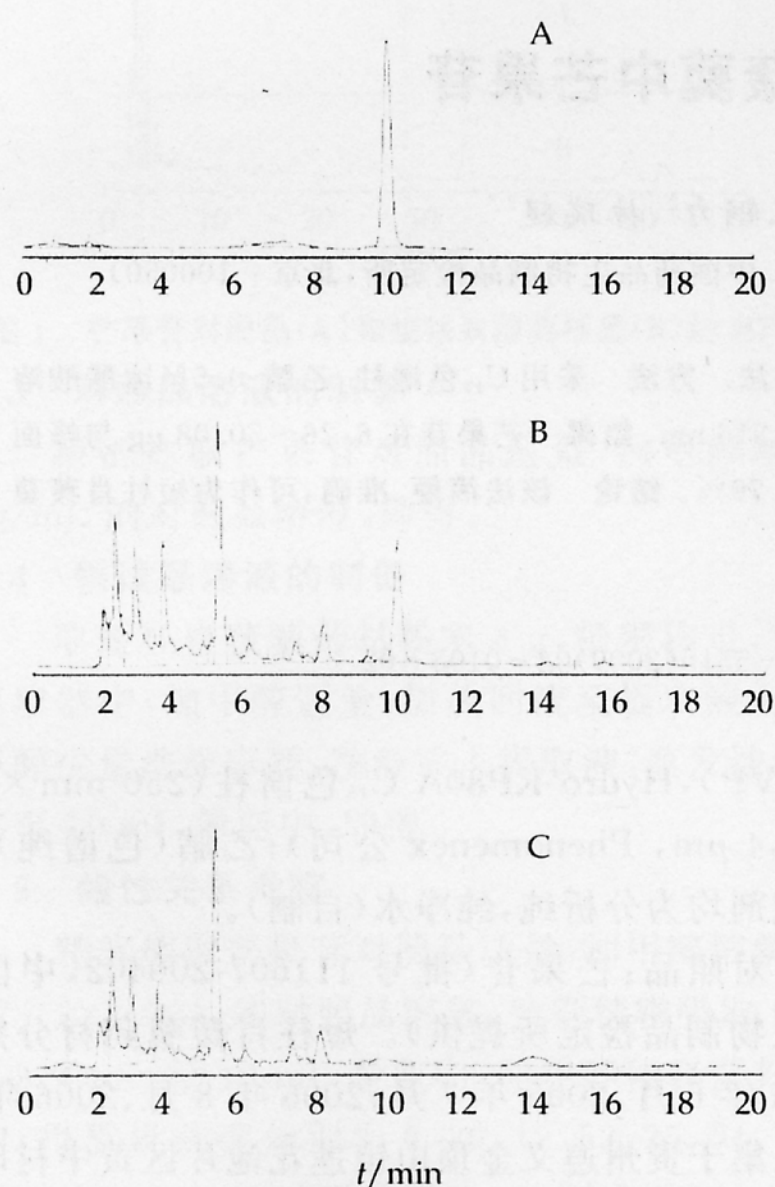


图4 天麻素对照品(A)、供试品(B)和阴性对照品(C) HPLC图

#### 2.2.6 线性关系考察

分别精密吸取天麻素对照品溶液(0.172 mg/mL)2、4、6、8、10 mL置10 mL量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,制成质量浓度分别为0.034 4、0.068 8、0.103 2、0.137 6、0.172 0 mg/mL的对照品溶液。分别精密吸取上述5种溶液各10  $\mu$ L,按2.2.1项下色谱条件进样,以峰面积积分值为纵坐标,天麻素进样量为横坐标,得回归方程为: $Y=684\ 144\ X-31\ 943$ ,  $r=0.999\ 9$ 。结果表明,天麻素

在0.344~1.720  $\mu$ g进样量与峰面积呈良好的线性关系。

#### 2.2.7 精密度试验

精密吸取天麻素对照品溶液(0.172 mg/mL)10  $\mu$ L,按上述色谱条件重复进样5次,测定天麻素峰面积积分值,其RSD为0.27%。

#### 2.2.8 重现性试验

取同一批舒天宁颗粒(批号080203)样品,平行6份,分别按供试品溶液的制备方法制成供试品溶液,分别进样,测定。结果舒天宁颗粒中天麻素的平均质量分数为0.20%,RSD为0.59%,表明重现性良好。

#### 2.2.9 稳定性试验

取舒天宁颗粒(批号080203)供试品溶液,分别于0、2、4、6、8、12 h测定天麻素的峰面积值,计算其RSD为1.15%。结果表明,天麻素在12 h内稳定。

#### 2.2.10 回收率试验

取同一批舒天宁颗粒(批号080203)约0.5 g,平行6份,精密称定,分别精密加入天麻素对照品适量(样品量80%、100%、120%),按2.2.3项下方法制成供试品溶液,分别进样,测定舒天宁颗粒中天麻素的量,计算回收率。结果平均加样回收率为97.65%,RSD为1.17%。

#### 2.2.11 样品测定

取舒天宁颗粒约1 g,精密称定,按2.2.3项下方法制成供试液,分别精密吸取供试品溶液、对照品溶液各10  $\mu$ L,注入液相色谱仪,按外标法计算其量,结果见表1。

表1 舒天宁颗粒中天麻素的测定结果

| 批号     | 天麻素/(mg·g <sup>-1</sup> ) |
|--------|---------------------------|
| 080201 | 1.92                      |
| 080202 | 1.86                      |
| 080203 | 2.01                      |

### 3 讨论

#### 3.1 溶剂与洗脱剂的选择

天麻素属于酚类化合物,极性较大,在水溶液中较难与其他成分分离鉴别。笔者曾用甲醇溶解,超声,滤过,浓缩后点样,结果供试品色谱中天麻素的斑点与其相邻的斑点有重叠现象,且斑点有拖尾;同时阴性对照在同一位置有斑点干扰。改用水饱和正丁醇溶剂,可以减少杂质成分的溶出。同时样品溶液通过D101型大孔吸附树脂柱,去除大部分水溶性杂质。比较不同浓度的洗脱液,结果发现,10%乙醇洗脱液



中,天麻素的量最高,因此确定10%乙醇作为洗脱液。在栀子的鉴别中发现用70%乙醇洗脱时,栀子苷的量最高,因此确定70%乙醇作为洗脱液。

### 3.2 展开剂的选择

舒天宁颗粒中天麻的定性鉴别曾参考《中国药典》2005年版“天麻”药材的方法,以醋酸乙酯-甲醇-水(9:1:0.1)为展开剂,结果供试品斑点重叠比较严重,分离度差,且阴性对照有干扰;改用三氯甲烷-醋酸乙酯-甲醇-甲酸(8:1:3:0.1)为展开剂后,发现色谱图中天麻素斑点清晰,无干扰。

### 3.3 检测波长的选择

经紫外扫描,天麻素对照品在220、270 nm波长处有最大吸收,从天麻素对照光谱图可见220 nm检测的灵敏远高于270 nm;分析两个波长的峰面积,220 nm检测的峰面积为270 nm的10倍,所以选择220 nm作为测定波长。

#### 参考文献

- [1] 中国药典[S].一部.2005.
- [2] 李怀斌,侯建平,邵可众,等.复方天麻首乌酒中天麻素的鉴别[J].安徽中医学院学报,2002,21(6):3.
- [3] 朱浩,毛声俊.大孔树脂吸附纯化不同中药有效部位特性研究[J].中国中药杂志,1998,23(10):607.

(收稿日期 2008-10-21)

## HPLC法测定短柱肖菝葜中芒果苷

秦文杰<sup>1,2</sup>,易剑平<sup>1</sup>,周大成<sup>1</sup>,王钢力<sup>2</sup>,林瑞超<sup>2\*</sup>

(1. 中药复方新药开发国家工程研究中心,北京 100075;2. 中国药品生物制品检定所,北京 100050)

**摘要:**目的 建立HPLC法测定短柱肖菝葜药材中芒果苷的方法。方法 采用C<sub>18</sub>色谱柱,乙腈-0.5%冰醋酸溶液(10:90)为流动相;体积流量1 mL/min;柱温25℃;检测波长316 nm。结果 芒果苷在6.26~50.08 μg与峰面积积分值呈良好的线性关系。平均回收率为101.31%;RSD为1.79%。结论 该法简便、准确,可作为短柱肖菝葜药材的测定方法。

**关键词:**短柱肖菝葜;HPLC法;芒果苷

**中图分类号:**R284.1

**文献标识码:**A

**文章编号:**1674-5515(2009)02-0108-02

短柱肖菝葜 *Heterosmilax yunnanensis* Gagnep. 为百合科肖菝葜属植物,具有清热、除湿、解毒之功效。用于湿热淋浊、带下、痈肿、瘰癧、梅毒及汞中毒所致的肢体拘挛、筋骨疼痛。短柱肖菝葜的化学成分、质量控制等研究未见报道。笔者从化学成分、药理活性和质量控制等方面对其进行了较为深入的研究<sup>[1-2]</sup>。化学成分提取、分离结果表明,短柱肖菝葜中含有许多黄酮类成分,种类多,但量低,其中芒果苷的量相对比较大,且单体化合物体外抗肿瘤细胞筛选结果表明,包括芒果苷在内的呋喃糖苷类化合物有较好的抑制人肺癌细胞(A-549)和人结肠癌细胞(HCT-8)的作用,因此选择芒果苷作为指标成分,采用HPLC法对其进行了定量分析。

### 1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(日本岛津CLASS-VP

10AVP),Hydro-RP80A C<sub>18</sub>色谱柱(250 mm×4.6 mm,4 μm,Phenomenex公司);乙腈(色谱纯),其他试剂均为分析纯,纯净水(自制)。

对照品:芒果苷(批号111607-200402,中国药品生物制品检定所提供)。短柱肖菝葜药材分别于2005年6月、2005年7月、2006年8月、2006年10月采集于贵州遵义金顶山镇莲花池片区黄中村印山(按采集时间先后,批号分别为0506、0507、0608、0610),经张继副主任药师鉴定为短柱肖菝葜 *H. yunnanensis* Gagnep. 的干燥根茎;标本存于中国药品生物制品检定所标本馆。

### 2 方法与结果

#### 2.1 检测波长的选择

精密称取芒果苷对照品6.26 mg,置50 mL量瓶中,加甲醇适量,超声使溶解,加甲醇至刻度,摇

**基金项目** 北京市科技计划项目(D0206001043491)

**作者简介** 秦文杰(1971—),女,博士,主要研究方向:中药化学成分及质量控制。Tel:(010)87632624,E-mail:zzwenjieqin@yahoo.com.cn

\* **通讯作者** 林瑞超,男,教授,博士生导师,Tel:(010)67095307,E-mail:Linrch307@sina.com