

## 调经助孕颗粒剂质量控制研究

李陆军, 初云海, 冯丽彬

(黑龙江中医药大学附属第一医院 制剂室, 黑龙江 哈尔滨 150040)

**摘要: 目的** 更好地控制调经助孕颗粒剂的质量。**方法** 采用 TLC 法对调经助孕颗粒剂中的白芍、川楝子进行定性鉴别; HPLC 法对柚皮苷进行定量检测, 色谱柱为 Symmetry C<sub>18</sub> (150 mm×2.1 mm, 3.5 μm), 流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液 (18:82), 体积流量 0.8 mL/min, 柱温 35 °C, 检测波长 283 nm。**结果** TLC 显色清晰; 柚皮苷在 0.404~5.05 μg 有良好线性关系 ( $r=0.9993$ ), 平均回收率为 99.26%, RSD 为 2.03%。**结论** 本研究可用于调经助孕颗粒剂的质量控制, 方法简便、可靠, 能较好地控制该制剂的内在质量。

**关键词:** 调经助孕颗粒剂; 薄层色谱; 柚皮苷; HPLC 法

**中图分类号:** R927.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-5515(2010)06-0460-03

### Study on quality control of Tiaojing Zhuyun Granules

LI Lu-jun, CHU Yun-hai, FENG Li-bin

(The First Affiliated Hospital, Heilongjiang University of Traditional Chinese medicine, Harbin 150040, China)

**Abstract: Objective** To control effectively the quality of Tiaojing Zhuyun Granules. **Methods** *Paeoniae Radix Alba* and *Toosendan Fructus* in this medicine were identified by TLC. Naringin was determined by HPLC, using Symmetry C<sub>18</sub> column with a mixture of acetonitrile-0.1% phosphoric acid (18:82) as the mobile phase. The temperature of column was 35 °C. The velocity was 0.8 mL/min. The detection wavelength was 283 nm. **Results** TLC spots were quite clear. There was a good linear relationship at a range of 0.404—5.05 μg ( $r=0.9993$ ). The average recovery rate was 99.26%, and RSD was 2.03%. **Conclusion** The method is simple, reliable and reproducible. It can be used for the quality control of Tiaojing Zhuyun Granules.

**Keywords:** Tiaojing Zhuyun Granules; TLC; naringin; HPLC

调经助孕颗粒剂是黑龙江中医药大学附属第一医院制剂室制备的, 由白芍、川楝子、当归、牛膝、瓜蒌、枳壳等 11 味中药组成的复方制剂, 临床用于治疗肝郁气滞、血瘀不畅所致月经不调、闭经、痛经、乳痈等症, 具有行气止痛、补血活血、养血调经之功效。本方是黑龙江中医药大学附属第一医院名老中医之经验方, 临床应用 30 余年, 疗效显著, 无毒副作用及不良反应。本实验采用薄层色谱 (TLC) 法<sup>[1]</sup>对其中的白芍、川楝子进行定性鉴别, 采用高效液相色谱 (HPLC) 法<sup>[2-4]</sup>对其有效成分柚皮苷进行定量分析, 以便更好地控制该制剂质量。

### 1 仪器与材料

LC-2010 型高效液相色谱仪、SPD-6AV 紫外检测器 (日本岛津); BS2200 型超声波发生器 (必能信超声有限公司); BP211D 型电子天平 (德国 Sartorius)。

调经助孕颗粒剂 (批号 20091006、20100119、20100415) 由黑龙江中医药大学附属第一医院制剂室提供; 水为重蒸水, 乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯; 自制硅胶 H 板 (硅胶购自青岛海洋化工厂)。

**基金项目** 黑龙江省中医管理局研究课题 (ZHY08-W101)

**作者简介** 李陆军 (1971—), 男, 中药学硕士, 研究方向为中药制剂的工艺设计及其质量标准。

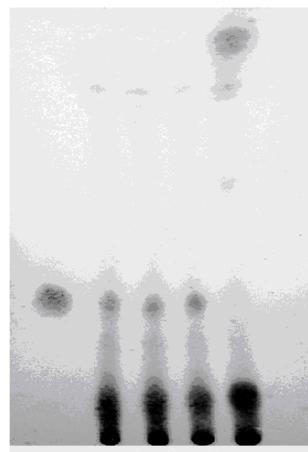
Tel: 0451-82123259, E-mail: 949224879@qq.com

柚皮苷、芍药苷(中国药品生物制品检定所,批号分别为110722-200610、110736-200710);川楝子对照药材(黑龙江中医药大学附属第一医院制剂室提供,批号20090409)。

## 2 方法与结果

### 2.1 白芍的 TLC 鉴别

取调经助孕颗粒剂10g,研细,加甲醇100mL加热回流1h,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇10mL溶解,作为供试品溶液。另取按处方配比及制备工艺制备的缺白芍的阴性对照样品,同法制成阴性对照溶液。精密称取芍药苷对照品适量,加甲醇制成质量浓度为1mg/mL的溶液,作为对照品溶液。照TLC法(《中国药典》2010年版一部附录VI B)试验,吸取上述两种溶液各10 $\mu$ L,分别点于同一自制硅胶H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。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的蓝紫色斑点。而阴性对照溶液无此斑点。结果见图1。



1-芍药苷 2~4-样品, 5-阴性对照

图1 白芍的 TLC 图

### 2.2 川楝子的 TLC 鉴别

取调经助孕颗粒剂10g,研细,加甲醇100mL加热回流1h,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇10mL溶解,作为供试品溶液。另取按处方配比及制备工艺制备的缺川楝子的阴性对照样品,同法制成阴性对照溶液。取川楝子对照药材1g,加甲醇30mL,加热回流1h,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇1mL使溶解,作为对照药材溶液。照TLC法(《中国

药典》2010年版一部附录VI B)试验,吸取上述两种溶液各10 $\mu$ L,分别点于同一自制硅胶H薄层板上,以甲苯-丙酮(9:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置碘蒸气中熏至斑点显色清晰。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。而阴性对照溶液无此斑点。结果见图2。



1-对照药材 2~4-样品 5-阴性对照

图2 川楝子的 TLC 图

### 2.3 柚皮苷的测定

#### 2.3.1 色谱条件

Symmetry C<sub>18</sub> 色谱柱(150 mm $\times$ 2.1 mm, 3.5 $\mu$ m),流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液(18:82),体积流量0.8 mL/min,检测波长283 nm;柱温35 $^{\circ}$ C,进样量10 $\mu$ L。

#### 2.3.2 对照品溶液的制备

精密称取柚皮苷对照品适量,加甲醇溶液制成柚皮苷质量浓度为1.01 mg/mL的溶液,即得。

#### 2.3.3 供试品溶液的制备

将调经助孕颗粒剂研细,取约10g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇溶液100 mL,称定质量,密塞,加热回流1.5 h,放冷,密塞,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取50 mL,蒸干,以甲醇转移残渣置于50 mL量瓶中,定容,摇匀,即得。

#### 2.3.4 阴性对照溶液的制备

取除陈皮外的各药材,按调经助孕颗粒剂的处方配比制成缺陈皮的阴性样品,按“2.3.3”项下方法制成阴性对照溶液。

#### 2.3.5 专属性试验

分别取“2.3.2”、“2.3.3”、“2.3.4”项下溶液,按“2.3.1”项下色谱条件进行测定,结果柚皮苷峰

与其他峰分离良好, 阴性对照溶液无干扰。色谱图见图3。

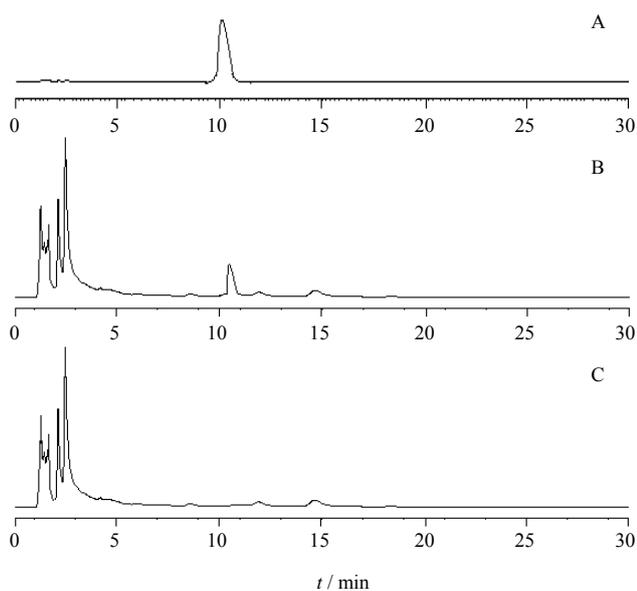


图3 柚皮苷对照品(A)、调经助孕颗粒剂(B)和阴性对照品(C)的HPLC图

### 2.3.6 线性关系考察

精密吸取对照品溶液0.2、0.5、1、1.5、2、2.5 mL, 分别置于5 mL量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 分别按“2.3.1”项下色谱条件进样分析, 以柚皮苷峰面积积分值为纵坐标, 柚皮苷进样量为横坐标进行线性回归, 得回归方程  $Y=851\,529X-274\,846$ ,  $r=0.999\,3$ , 表明柚皮苷在0.404~5.05  $\mu\text{g}$  与峰面积线性关系良好。

### 2.3.7 精密度试验

取对照品溶液, 按“2.3.1”项下色谱条件进样分析, 连续进样5次, 记录峰面积, 峰面积积分值的RSD为1.05%。

### 2.3.8 重现性试验

取同一批样品(批号20100119)5份, 精密称定后按“2.3.3”项下方法制备, 按“2.3.1”项下色谱条件进样分析, 记录峰面积, 外标法计算柚皮苷的量。结果柚皮苷的RSD为1.66%, 表明该方法的重现性良好。

### 2.3.9 稳定性试验

取同一批样品(批号20100119)溶液, 按“2.3.1”项下色谱条件进样分析, 分别于0、4、8、12、16、20、24 h各进样1次, 记录峰面积。峰面积积分值的RSD为1.88%, 表明样品在24 h内稳定。

### 2.3.10 加样回收率试验

取已测定的同一批样品(批号20100119)5份, 每份5.0 g, 精密称定, 分别精密加入一定量的柚皮苷对照品溶液, 按“2.3.3”项下方法制备供试品, 按“2.3.1”项下色谱条件进样分析, 外标法计算柚皮苷的量并计算其回收率。结果柚皮苷平均回收率为99.26%, RSD为2.03%。

### 2.3.11 样品测定

分别取3批样品(批号20091006、20100119、20100415)各3份, 按“2.3.3”项下方法制备供试品, 按“2.3.1”项下色谱条件测定, 以外标法计算样品中柚皮苷的量。测定结果见表1。

表1 调经助孕颗粒剂中柚皮苷测定结果( $n=3$ )

批号	柚皮苷/( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	RSD/%
20091006	1.98	1.34
20100119	2.01	1.79
20100415	2.02	1.31

## 3 讨论

在参考文献[3]的基础上, 对柚皮苷最大吸收波长进行了选择, 在波长283 nm处有最大吸收, 故选择检测波长为283 nm。

在选择流动相时, 用乙腈-水作流动相时有明显的拖尾, 加入磷酸后, 可改善峰形和分离度, 故选用乙腈-0.1%磷酸溶液(18:82)作流动相, 此时峰形较好, 可达到基线分离。

本实验对中药复方调经助孕颗粒剂中的白芍和川楝子进行TLC鉴别, 并测定了样品中柚皮苷的量, 此法操作简单、重现性好, 可作为调经助孕颗粒剂质量控制的有效方法。

### 参考文献

- [1] 康廷国, 翟廷君, 盖峰, 等. 中成药薄层色谱鉴别[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1995: 1.
- [2] 中国药典[S]. 一部. 2010: 29.
- [3] 李可强, 张广财, 宋宇宁, 等. 肿节风中落新妇苷及柚皮苷的HPLC分析[J]. 中草药, 2010, 41(1): 137-138.
- [4] 朱克, 吴立成, 周玲娜. HPLC法测定抗骨增生片中柚皮苷[J]. 中草药, 2010, 41(6): 914-916.
- [5] 李陆军, 初云海, 王艺, 等. 高效液相色谱法测定调经助孕冲剂中的芍药苷[J]. 国外医药: 植物药分册, 2007, 22(3): 114-115.

(收稿日期 2010-10-09)