

小儿磨积片的质量控制研究

黄丽娜, 贾 勋, 王 佳*

天津同仁堂集团股份有限公司, 天津 300385

摘要: 目的 建立小儿磨积片的质量标准。方法 采用薄层色谱法对制剂中甘草、厚朴进行定性鉴别; 采用高效液相色谱法对橙皮苷进行定量测定。色谱柱为美国 Dikma 公司 C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-0.4%磷酸溶液 (45:55) 为流动相, 体积流量 1 mL/min, 检测波长 283 nm。结果 薄层色谱鉴别斑点清晰, 阴性样品无干扰; 定量测定中橙皮苷进样量在 0.044~0.264 μg 与峰面积线性关系良好 ($r=0.9997$); 平均回收率为 98.90%, RSD 为 1.49% ($n=6$)。结论 建立的方法操作简单, 专属性和重现性好, 可作为该制剂的质量控制方法。

关键词: 小儿磨积片; 质量控制; TLC; 橙皮苷; HPLC

中图分类号: R917 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2011)06-0439-03

Quality control for Xiao'er Moji Tablets

HUANG Li-na, JIA Xun, WANG Jia

Tianjin Tongrentang Group Co., Ltd., Tianjin 300385, China

Abstract: **Objective** To establish the quality standard for Xiao'er Moji Tablets (XMTs). **Methods** *Glycyrrhizae Radix* and *Magnoliae Officinalis Cortex* were identified by TLC. Hesperidin was determined by HPLC. The chromatographic column was a Dikma-C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with a mobile phase of acetonitrile-0.4% phosphoric acid solution (45:55). The flow rate was 1.0 mL/min; The detective wavelength was set at 283 nm. **Results** TLC spots developed were fairly clear and the negative sample showed no interference. The calibration curve was linear within range of 0.044—0.264 μg ($r = 0.9997$). The average recovery was 98.90%, RSD was 1.49% ($n = 6$). **Conclusion** The method is accurate, sensitive, and specific. It could be used for the quality control of XMTs.

Key words: Xiao'er Moji Tablets (XMTs); quality control; TLC; hesperidin; HPLC

小儿磨积片来源于民间验方, 由泽泻、半夏、山楂、茯苓、白术、陈皮、苍术、厚朴、甘草、广藿香、干酵母、糖化素组成。有消食除积、和胃止呕、舒气宽胸之功效, 可用于小儿消化不良、停乳、呕吐等症。现收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第10册第17页, 执行标准号 WS₃-B-1187-95。现执行的质量标准仅规定了性状及检查项。为有效地控制药品质量, 本文增加了甘草和厚朴的薄层鉴别方法, 橙皮苷的定量测定方法。修订后的标准可用于小儿磨积片的质量控制。

1 仪器与试药

Agilent 1200 高效液相色谱仪 (四元泵、自动进样器、vwd 检测器等), Chemstation 色谱工作站; 超声波清洗器 (上海超声仪器厂)。

甘草对照药材 (批号 120904-200914)、厚朴酚

对照品 (批号 110729-200309)、橙皮苷对照品 (批号 110721-200613, 供含量测定用) 均购自中国食品药品检定研究院; 小儿磨积片 (天津同仁堂集团股份有限公司, 批号 510002、581001、595001、681001、689002、691001、692002、785001、791001、885001), 甲醇、甲苯、甲酸、乙醇、醋酸乙酯、磷酸为分析纯, 乙腈为色谱纯, 水为去离子水。

2 薄层色谱鉴别

2.1 甘草的薄层色谱鉴别

2.1.1 供试品溶液的制备 取小儿磨积片除去包衣, 研细, 取粉末 3 g, 加 50%乙醇 30 mL 回流 30 min, 滤过。滤液浓缩至约 3 mL, 加水 10 mL, 加醋酸乙酯提取 2 次, 每次 20 mL, 提取液浓缩至约 2 mL, 作为供试品溶液。

2.1.2 对照药材溶液的制备 另取甘草对照药材

收稿日期: 2011-07-08

*通讯作者 王 佳, 女, 工程师。Tel: (022)26579806, E-mail: ky@tjtongentang.com

1 g, 加 50%乙醇 20 mL, 同法制成对照药材溶液。

2.1.3 阴性样品溶液的制备 按处方配比, 分别取除甘草外的其他药材, 按制剂工艺制成阴性样品粉末, 再按供试品溶液的制备方法制成阴性样品溶液。

2.1.4 薄层色谱 照薄层色谱法(《中国药典》2010年版一部附录VI B)试验, 分别吸取上述3种溶液各5 μ L, 点于同一活化后的硅胶G薄层板上, 以甲苯-醋酸乙酯-甲酸(14:7:2)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷10%硫酸乙醇溶液, 105 $^{\circ}$ C烘至显色清晰。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, 阴性样品溶液均无干扰, 见图1-A。

2.2 厚朴的薄层色谱鉴别

2.2.1 供试品溶液的制备 取小儿磨积片, 除去包衣, 研细, 取粉末2 g, 加甲醇20 mL, 超声处理30 min, 放置, 倾出上清液, 浓缩至约2 mL, 作为供试品溶液。

2.2.2 对照品溶液的制备 取厚朴酚对照品, 加甲醇制成0.2 mg/mL溶液, 作为对照品溶液。

2.2.3 阴性样品溶液的制备 按处方配比, 取除厚朴外的其他药材按制剂工艺制成阴性样品粉末, 再按上述供试品溶液的制备方法制成阴性样品溶液。

2.2.4 薄层色谱 照薄层色谱法^[1](《中国药典》2010年版一部附录VI B)试验, 吸取上述3种溶液各5 μ L, 分别点于同一GF₂₅₄薄层板上, 以甲苯-醋酸乙酯(5:4)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(254 nm)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, 阴性样品溶液均无干扰, 见图1-B。

3 橙皮苷的测定

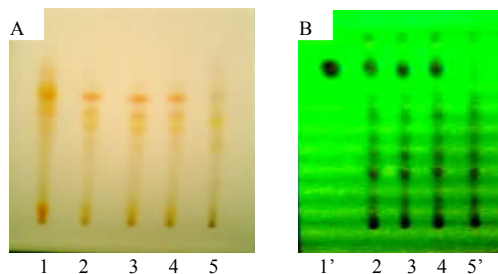
3.1 色谱条件^[2]

美国Dikma公司C₁₈柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 流动相为乙腈-0.4%磷酸溶液(45:55); 检测波长283 nm; 柱温25 $^{\circ}$ C; 体积流量1.0 mL/min; 进样量10 μ L。

3.2 溶液的制备

3.2.1 对照品溶液的制备 取橙皮苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成13 μ g/mL溶液, 即得。

3.2.2 供试品溶液的制备 取本品适量, 除去糖衣, 研细, 取约0.4 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇100 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理(功率200 W, 频率40 kHz)40 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤



1-甘草对照药材 1'-厚朴酚对照品 2~4-小儿磨积片样品(885001, 785001, 689002) 5-甘草药材阴性样品 5'-厚朴酚阴性样品
1- *Glycyrrhizae Radix* reference crude drug 1'- magnolol reference substance 2~4-XMTs samples(885001, 785001, 689002)
5-*Glycyrrhizae Radix* negative sample 5'-magnolol negative sample

图1 甘草(A)和厚朴(B)的薄层色谱图

Fig. 1 TLC chromatogram of *Glycyrrhizae Radix* (A) and *Magnoliae Officinalis Cortex* (B)

液过0.45 μ m微孔滤膜, 即得。

3.2.3 阴性样品溶液的制备 按处方配比, 取除陈皮外的其他药材, 按制剂工艺制成阴性样品粉末, 再按供试品溶液的制备方法制成阴性样品溶液。

3.3 阴性对照试验

分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性样品溶液各10 μ L, 注入液相色谱仪, 按“3.1”项下色谱条件进样分析。结果阴性样品溶液在橙皮苷色谱峰对应的保留时间处无干扰, 见图2。

3.4 标准曲线制备

精密称取橙皮苷对照品4.4 mg, 置100 mL棕色量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为储备液, 再分别精密吸取1、2、3、4、5、6 mL于10 mL容量瓶, 甲醇定容至刻度, 分别进样10 μ L, 按“3.1”项下色谱条件分析, 测定各自峰面积, 以橙皮苷对照品进样量为横坐标(X), 峰面积值为纵坐标(Y), 绘制橙皮苷标准曲线。线性回归方程为 $Y=1\ 165.65 X-6.39$ ($r=0.999\ 7$), 结果表明橙皮苷在0.044~0.264 μ g线性良好。

3.5 精密度试验

取批号689002样品1份, 按“3.2.2”项下方法操作, 按“3.1”项下条件分析, 精密吸取供试品溶液10 μ L, 连续进样6次, 结果橙皮苷峰面积RSD为0.42%。

3.6 重现性试验

取批号689002的样品6份, 按“3.2.2”项下方法操作, 按“3.1”项下条件分析, 测定每份样品中的橙皮苷。结果橙皮苷平均量为0.781 mg/片, RSD为0.67%。

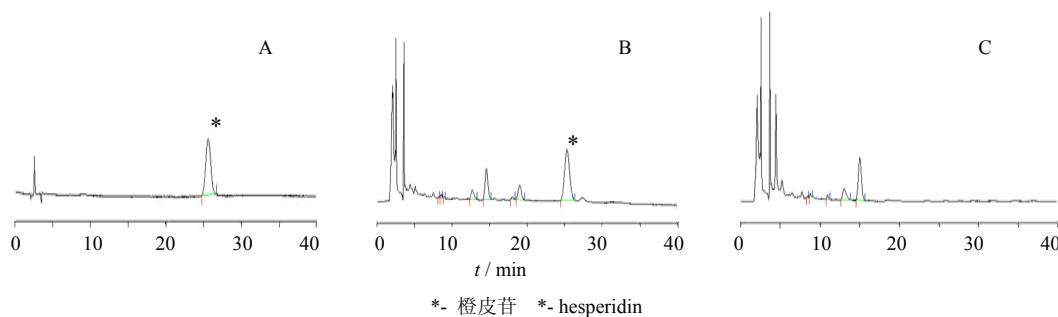


图2 小儿磨积片对照品(A)、供试品溶液(B)、阴性样品(C)中测定橙皮苷的高效液相色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of hesperidin in XMT (A), solution for test (B), and negative samples (C)

3.7 稳定性试验

取批号 689002 的样品 1 份, 按“3.2.2”项下方法操作, 按“3.1”项下条件分析, 分别于 0、2、5.5、10、16、20、24 h 测定, 结果橙皮苷为 0.785 mg/片, RSD 为 0.62%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

3.8 回收率试验

取批号 689002 的样品 6 份, 每份 0.2 g, 精密称定, 精密加入含橙皮苷对照品 6.5 $\mu\text{g/mL}$ 的甲醇溶液 100 mL, 按照“3.2.2”项下方法操作, 制得供试品溶液, 按“3.1”项下条件分析, 计算回收率, 结果平均回收率为 99.59%, RSD 为 1.445%。

3.9 样品测定

取其余 9 批样品 (批号 510002、581001、595001、681001、691001、692002、785001、791001、885001), 按“3.2.2”项下方法操作, 按“3.1”项下条件分析, 测定样品中橙皮苷, 结果见表 1。

表 1 9 批样品测定结果 ($n=2$)

Table 1 Determination of nine batches of samples ($n=2$)

批号	橙皮苷/(mg·片 ⁻¹)	批号	橙皮苷/(mg·片 ⁻¹)
885001	1.036	692002	0.629
785001	0.966	791001	0.636
581001	0.645	510002	0.688
681001	0.764	595001	0.624
691001	0.604		

4 讨论

4.1 耐用性试验

使用 Agilent 1200 高效液相色谱仪, 分别采用 Dikma-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm), Agilent Zorbax SB-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm), Ameritech Accurasil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm), Phenomenex Luna C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 按“3.1”项下条件分析, 测定样品中的橙皮苷。结果表明使

用不同色谱柱对测定无影响, 见表 2。

表 2 不同色谱柱测定橙皮苷 ($n=2$)

Table 2 Determination of hesperidin on different chromatographic columns ($n=2$)

色谱柱	橙皮苷/(mg·片 ⁻¹)	保留时间/min
Dikma	0.783	26.431
Agilent	0.780	25.058
Ameritech	0.792	21.396
Phenomenex	0.788	28.637

4.2 定量测定方法的建立

4.2.1 提取方法的选择 根据陈皮中橙皮苷的性质, 采用超声提取方法对比索氏提取方法, 其峰形、峰面积、干扰杂质等考察项效果相似, 故采用简便快捷的超声提取法提取小儿磨积片中的橙皮苷。

4.2.2 提取时间的考察 精密称取同一样品, 除去糖衣, 研细, 精密称取 0.4 g 共 8 份, 各精密加入 100 mL 甲醇溶液, 分别超声提取 30、40、50 min, 测定峰面积, 考察峰形及干扰项, 比较所得结果, 超声 40 min 所测结果明显高于 30 min, 与超声 50 min 及索氏提取至无色时所测结果比较无明显变化, 故采用超声 40 min 提取。

4.2.3 流动相的选择 参考文献数据结合橙皮苷结构性质, 经过 Agilent 1200 高效液相色谱仪多泵在线混合的优势试用不同比例的乙腈-水、甲醇-水, 0.5%醋酸水-甲醇, 0.4%磷酸水-乙腈等流动相。经比较发现, 采用 0.4%磷酸水-乙腈 (55:45) 为小儿磨积片的流动相, 其出峰时间最适宜, 峰形最好。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 李洪刚, 李洪斌, 杨 思. RP-HPLC 同时测定健儿消食口服液中的橙皮苷和黄芩苷 [J]. 现代药物与临床, 2010, 25(5): 373-375.