

消脂通脉颗粒的质量标准研究

马秋菊*, 孙 萍(山东中医药大学附属医院, 济南 250012)

中图分类号 R284.1; R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)35-3325-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.35.20

摘 要 目的:建立消脂通脉颗粒的质量标准。方法:采用薄层色谱(TLC)法定性鉴别制剂中的半夏、大黄、白术、莪术;以高效液相色谱法测定陈皮中橙皮苷的含量;色谱柱为 YWG-C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-6.15%醋酸溶液(29:71, V/V),检测波长为 283 nm。结果:半夏、大黄、白术、莪术均可在 TLC 图中检出,阴性对照无干扰。橙皮苷的进样量在 0.466~2.796 μg 范围内与其峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.999\ 9$);平均加样回收率为 99.47%, RSD=0.99% ($n=6$)。结论:所建立的定性鉴别方法专属性强、重复性好,定量方法简便、准确、可靠,可用于消脂通脉颗粒的质量控制。

关键词 消脂通脉颗粒;质量标准;橙皮苷;薄层色谱法;高效液相色谱法;半夏;大黄;炒白术;莪术

Study on Quality Standard for Xiaozhi Tongmai Granule

MA Qiu-ju, SUN Ping(The Affiliated Hospital of Shandong University of TCM, Jinan 250012, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard of Xiaozhi tongmai granule. METHODS: *Pinellia ternata*, *Rhei Radix et Rhizoma*, *Atractylodes macrocephala* and *Curcumae Rhizoma* were identified by TLC qualitatively. The content of hesperidi was determined by HPLC. The separation was performed on YWG-C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm) with mobile phase consisted of methanol-6.15% acetic acid(29:71, V/V). The detection wavelength was 283 nm. RESULTS: *P. ternata*, *Rhei Radix et Rhizoma*, *A. macrocephala* and *Curcumae Rhizoma* could be identified by TLC without interference from negative control. The linear range of hesperidi were 0.466-2.796 μg ($r=0.999\ 9$) with average recovery of 99.47% (RSD=0.99%, $n=6$). CONCLUSIONS: The qualitative identification is specific and reproducible, and quantitative method is simple, accurate and reliable, which can be used for the quality control of Xiaozhi tongmai granule.

KEY WORDS Xiaozhi tongmai granule; Quality standard; Hesperidi; TLC; HPLC; *Pinellia ternata*; *Rhei Radix et Rhizoma*; *Atractylodes macrocephala*; *Curcumae Rhizoma*

消脂通脉颗粒是根据山东中医药大学郭伟星教授采用祛痰化痰法治疗高脂血症的代表方所研制的颗粒剂,在临床应用中取得了较好的疗效。该处方由半夏、陈皮、泽泻、大黄、莪术、威灵仙、炒白术等 8 味中药组成。为了更好地控制该制剂质量,保证临床用药的安全、有效,笔者对其进行了质量标准研究,采用薄层色谱(TLC)法对方中半夏、大黄、白术、莪术进行了定性鉴别,并以高效液相色谱(HPLC)法测定陈皮中橙皮苷的含量。

1 材料

1.1 仪器

LC-10AT_{VP}型 HPLC 仪,含 SPD-10A_{VP}型检测器、N-2000 型

双通道色谱工作站(日本岛津公司);电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];ZF-2 型三用紫外仪(上海市安亭电子仪器厂);5200H 型超声波提取器(上海科导超声仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

消脂通脉颗粒(批号:100715、100811、100920、110113、110221)及各缺味阴性样品由山东中医药大学附属医院自制;橙皮苷、大黄素对照品与大黄、白术、莪术、半夏对照药材(中国食品药品检定研究院,批号分别为 110721-200211、110756-200310、120902-200408、120925-200206、121304-200303、121272-200401);硅胶 H(青岛麦克硅胶干燥剂有限公司,批号:

- 18(6):1 421.
- [7] 王淑敏,李慧琳,刘志强,等.儿茶药材中儿茶素和表儿茶素的高效液相色谱法分析研究[J].时珍国医国药,2006,17(4):490.
- [8] 陈烨,周云鹏,徐利峰,等.HPLC 法同时测定武原胶囊中儿茶素和表儿茶素的含量[J].辽宁大学学报:自然科学版,2008,35(3):267.

- [9] 颜学伟.高效液相色谱法测定万应锭中儿茶素和表儿茶素含量[J].中国中医急症,2005,14(11):1 089.
- [10] 路飏,彭咏梅.HPLC 法测定心脑健滴丸中儿茶素和表儿茶素的含量[J].湖南中医杂志,2007,23(1):78.
- [11] 康建斌.高效液相色谱法测定儿茶胶囊中儿茶素和表儿茶素的含量[J].吉林中医药,2009,29(1):80.
- [12] 洪建文,叶曼红,贾宜军.HPLC 法测定腹痛水中儿茶的含量[J].中药材,2007,30(9):1 171.

* 副主任药师,硕士。研究方向:中药制剂。电话:0531-68617403。E-mail:mqj1966@163.com

(收稿日期:2013-06-15 修回日期:2013-07-23)

041018);硅胶G(青岛海洋化工有限公司,批号:031022);甲醇为色谱纯,醋酸为优级纯,水为重蒸水,其余试剂均为分析纯。

2 定性鉴别

2.1 半夏的TLC鉴别

取样品颗粒4.0 g,加甲醇30 ml超声提取(功率:200 W,频率:59 kHz)30 min,滤过,滤液回收甲醇至2 ml,作为供试品溶液。另取半夏对照药材3.0 g,同法制备对照药材溶液。再取缺半夏的阴性样品4.0 g,同法制备阴性对照溶液。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,以苯-乙酸乙酯-甲醇-二乙胺(9:1:2:0.5, $V/V/V/V$)为展开剂,展开约17 cm,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,置于105 $^{\circ}$ C烘箱中烘至斑点清晰,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上显示淡黄色的斑点;阴性对照无此斑点^[1]。半夏的TLC图见图1。

2.2 大黄的TLC鉴别

取样品颗粒2.0 g,加甲醇20 ml浸泡1 h,滤过,取滤液5 ml,蒸干,残渣加水10 ml使溶解,再加盐酸1 ml,加热回流30 min,立即冷却,用乙醚分2次振摇提取,每次20 ml,合并乙醚液,蒸干,残渣加三氯甲烷1 ml使溶解,作为供试品溶液。另取缺大黄的阴性样品2.0 g,同法制成阴性对照溶液。再取大黄对照药材0.1 g,同法制成对照药材溶液。最后取大黄素对照品适量,加三氯甲烷制成每1 ml含1 mg的溶液,作为对照品溶液。吸取上述4种溶液各4 μ l,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶H薄层板上,以石油醚(30~60 $^{\circ}$ C)-甲酸乙酯-甲酸(15:5:0.2, $V/V/V$)的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,置于紫外光灯(365 nm)下检视。结果显示,供试品色谱中,在与对照药材和对照品色谱相应的位置上,显示相同的4个橙黄色荧光主斑点;阴性对照无此斑点^[2]。大黄的TLC图见图2。

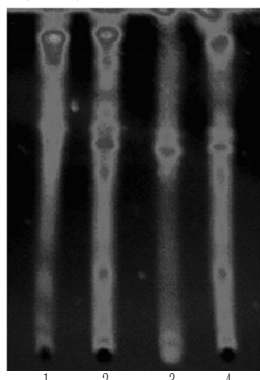


图1 半夏的TLC图

1.阴性对照;2、4.样品;3.半夏对照药材

Fig 1 TLC of *Pinellia ternata*

1.negative control; 2, 4.samples; 3.*Pinelliae* Rhizoma reference substance

2.3 白术的TLC鉴别

取样品颗粒10.0 g,加水60 ml,加热蒸馏提取挥发油1 h,得油水混合液30 ml,加乙醚10 ml振摇提取,乙醚液自然挥发至2 ml,作为供试品溶液。另取缺白术的阴性样品10.0 g,同法制成阴性对照溶液。再取白术对照药材0.51 g,加正己烷2

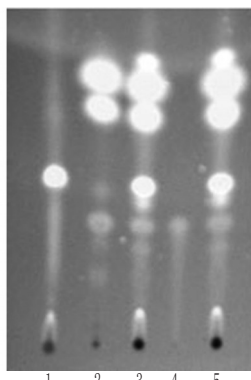


图2 大黄的TLC图

1.阴性对照;2.大黄对照药材;3、5.样品;4.大黄素对照品

Fig 2 TLC of *Rhei Radix et Rhizoma*

1.negative control; 2.*Radix et Rhizoma Rhei* reference substance; 3, 5.samples; 4.emodin control

ml,超声处理(功率:200 W,频率:59 kHz)15 min,滤过,取滤液作为对照药材溶液。照TLC法^[2]试验,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,以石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)-乙酸乙酯(25:0.3, V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以5%香草醛硫酸溶液,置于105 $^{\circ}$ C烘箱中烘至斑点清晰,日光下检视。结果,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显示相同颜色的斑点,并显示有一桃红色主斑点;阴性对照无此斑点^[2]。白术的TLC图见图3。

2.4 莪术的TLC鉴别

取样品颗粒5.0 g,加乙醚50 ml,超声处理(功率:200 W,频率:59 kHz)15 min,滤过,滤液挥除乙醚至2 ml,作为供试品溶液。另取缺莪术的阴性样品5.0 g,同法制成阴性对照溶液^[3-4]。再取莪术对照药材2.0 g,同法制成对照药材溶液。照TLC法^[2]试验,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,以石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)-乙酸乙酯(85:15, V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以5%香草醛硫酸溶液,置于105 $^{\circ}$ C烘箱中烘至斑点清晰,日光下检视。结果,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上显示相同颜色的斑点,并显示有两处玫瑰红色主斑点;阴性对照无此斑点。莪术的TLC图见图4。

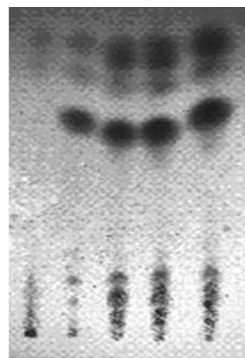


图3 白术的TLC图

1.阴性对照;2.白术对照药材;3~5.样品

Fig 3 TLC of *Atractylodes macrocephala*

1.negative control; 2.*Atractylodes Macrocephalae* Rhizoma reference substance; 3-5.samples

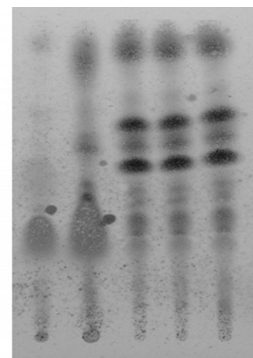


图4 莪术的TLC图

1.阴性对照;2.莪术对照药材;3~5.样品

Fig 4 TLC of *Curcumae Rhizoma*

1.negative control; 2.*Curcumae Rhizoma* reference substance; 3-5.samples

3 橙皮苷的含量测定

3.1 色谱条件^[2]

色谱柱: YWG-C₁₈ (150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m);流动相: 甲醇-6.15%醋酸溶液(29:71, V/V);检测波长: 283 nm;柱温: 25 $^{\circ}$ C;流速: 1 ml/min。

3.2 溶液的制备

3.2.1 对照品溶液的制备 精密称取橙皮苷对照品适量,加甲醇溶解并稀释制成质量浓度为0.233 mg/ml的对照品溶液,即得。

3.2.2 供试品溶液的制备 取消脂通脉颗粒约0.25 g,研细,精密称定,置于100 ml烧瓶中,加甲醇20 ml,置80 $^{\circ}$ C水浴中回流提取50 min,取出,放凉,滤入25 ml量瓶中,取约5 ml甲醇,分2次洗涤药渣及容器,洗液滤入同一量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,0.22 μ m微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

3.2.3 阴性对照溶液的制备 取缺陈皮的阴性样品,照“3.2.2”项下方法制备阴性对照溶液,即得。

3.3 专属性考察

精密吸取供试品溶液、阴性对照溶液各 20 μl, 对照品溶液 10 μl, 按上述色谱条件分别注入液相色谱仪测定, 记录色谱图。结果, 供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上有一相同保留时间的色谱峰, 且橙皮苷峰与杂质峰可达到良好的分离; 阴性对照在该保留时间处无色谱峰出现。色谱见图 5。

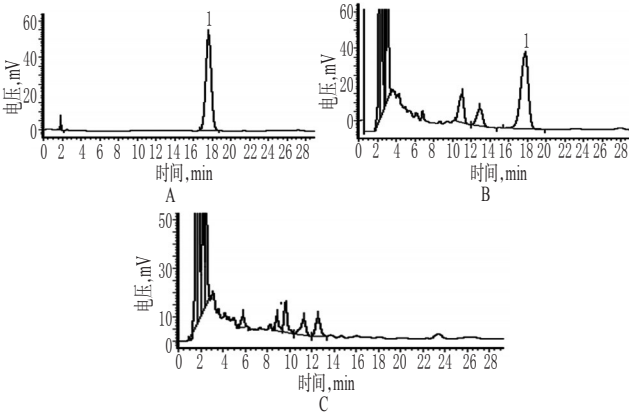


图5 高效液相色谱图

A. 橙皮苷对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 橙皮苷

Fig 5 HPLC chromatograms

A. hesperidi control; B. test sample; C. negative control; 1. hesperidi

3.4 线性关系考察

精密吸取橙皮苷对照品溶液 2、4、6、8、10、12 μl, 注入液相色谱仪, 分别按上述色谱条件测定, 记录峰面积。以进样量(x)对峰面积积分值(y)作线性回归, 得回归方程为 $y = 909\,998x + 73\,887$ ($r = 0.999\,9$, $n = 6$)。结果表明, 橙皮苷的进样量在 0.466~2.796 μg 范围内与其峰面积积分值呈良好的线性关系。

3.5 精密度试验

精密吸取橙皮苷对照品溶液 10 μl, 注入液相色谱仪, 重复进样 6 次, 按上述色谱条件测定, 记录峰面积。结果, $RSD = 0.19\%$ ($n = 6$), 表明仪器精密度良好。

3.6 稳定性试验

取同一供试品溶液适量, 照上述色谱条件分别于 0、2、4、6、8、10、12 h 进样测定, 记录峰面积。结果, $RSD = 1.24\%$ ($n = 7$), 表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

3.7 重复性试验

取同一批消脂通脉颗粒 6 份, 每份 0.25 g, 分别按“3.2.2”项下方法制备供试品溶液, 照上述色谱条件进样测定, 记录峰面积, 测定其中橙皮苷的含量。结果, 样品中橙皮苷的平均含量为 8.181 mg/g, $RSD = 1.03\%$ ($n = 6$), 表明本方法重复性良好。

3.8 加样回收率试验

精密称取已知含量的同一批样品 6 份, 每份约 0.125 g, 分别精密加入一定量橙皮苷对照品, 按“3.2.2”项下方法制备供试品溶液, 照上述色谱条件进样测定, 记录峰面积, 测定其中橙皮苷的含量, 并计算加样回收率, 结果见表 1。

3.9 样品含量测定

取 5 批样品各适量, 分别按“3.2.2”项下方法制备供试品溶液, 各取 20 μl, 照上述色谱条件进样测定, 记录峰面积, 以峰面积计算样品中橙皮苷的含量, 结果见表 2。

由表 2 可知, 5 批消脂通脉颗粒中橙皮苷的平均含量为 8.186 mg/g, 取其 75% 规定最低含量, 限定为 6.14 mg/g。

4 讨论

表 1 加样回收率试验结果 ($n = 6$)

Tab 1 Results of recovery test ($n = 6$)

样品号	称样量, g	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	回收率, %	$\bar{x}$, %	RSD, %
1	0.125 3	1.024 7	1.040 0	2.060 2	99.57		
2	0.120 8	0.987 9	1.110 0	2.080 8	98.46		
3	0.124 6	1.019 0	1.060 0	2.092 7	101.29	99.47	0.99
4	0.124 3	1.016 5	1.030 0	2.039 4	99.31		
5	0.123 7	1.011 6	1.040 0	2.045 6	99.42		
6	0.122 5	1.001 8	1.050 0	2.038 7	98.75		

表 2 样品中橙皮苷的含量测定结果 ($n = 3$)

Tab 2 Results of content determination of hesperidi ($n = 3$)

样品批号	橙皮苷含量, mg/g
100715	8.191
100811	8.175
100920	8.181
110113	8.180
110221	8.205
$\bar{x}$	8.186

预试验中, 笔者对方中多数药味进行了 TLC 鉴别研究, 最终建立了其中 4 味药材的 TLC 鉴别方法。其中, 大黄、白术的鉴别借鉴了 2010 年版《中国药典》方法, 展开剂比例作了适当调整, 结果均能达到良好分离, 斑点清晰, 重复性好; 半夏、莪术鉴别参考了文献方法^[1, 4-5], 调整了展开剂比例, 结果均能达到基本分离, 重复性良好; 另外, 薏苡仁、蒲黄鉴别参照了 2010 年版《中国药典》方法, 但制剂中难以分离出对照药材的斑点, 阴性对照有干扰, 有待进一步研究。

在消脂通脉颗粒处方中, 君药半夏无很好的定量成分, 臣药陈皮中的橙皮苷具有较好的降脂通脉作用, 可作为本制剂质量控制的指标成分, 故采用 HPLC 法对其含量进行测定。方法学研究表明本方法简便、灵敏、准确、重复性好, 能够可靠地控制该药品的内在质量。试验中对流动相比比例进行了调整, 最终确定了文中的流动相; 在制备供试品溶液时, 对超声提取与回流提取两种方法进行了对比, 结果发现回流提取的橙皮苷较超声提取多, 故采用回流提取法。

笔者还采用 HPLC 法对方中臣药泽泻中的泻醇 B23-乙酸的含量进行了测定, 但因其含量极低(一般为万分之几^[6]), 又因该制剂醇浸出物的脂溶性成分较多, 导致测定时泽泻醇 B23-乙酸酯与其他成分较难分开, 后虽然通过调整流动相比比例使其达到了基本分离, 但保留时间长、费时, 故本文中未予报道, 今后应探索一种更好的提取分离方法。

参考文献

[1] 傅佳, 潘林梅, 郭立玮. 半夏泻心颗粒的质量标准研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2006, 13(9): 51.
[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2010 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 22、附录 34、95、177.
[3] 匡菊香, 刘远文, 张倩茹, 等. 舌莲胃康胶囊的质量标准研究[J]. 中国药房, 2012, 23(3): 248.
[4] 谢滢. 桂郁金与桂莪术的薄层鉴别[J]. 中国民族民间医药, 2011(13): 51.
[5] 刘青云. 中药药理学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 200-201.

(收稿日期: 2012-11-28 修回日期: 2013-05-03)