

龙胆配方颗粒的质量标准研究^Δ

李海兵*,张霞,周永妍,王正品,张岩岩,李军山,陈军霞[#](神威药业集团有限公司,石家庄 051430)

中图分类号 R284.1;R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)15-2097-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.15.27

摘要 目的:建立龙胆配方颗粒的质量标准。方法:采用薄层色谱法(TLC)对制剂中龙胆进行鉴别;采用高效液相色谱法测定制剂中龙胆苦苷的含量;色谱柱为Dionex C₁₈,流动相为甲醇-水(25:75, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为270 nm,柱温为30 ℃,进样量为10 μl。结果:龙胆的TLC图斑点清晰,分离良好。龙胆苦苷检测进样量线性范围为0.302 6~3.026 μg ($r=0.999\ 9$);精密密度、稳定性、重复性试验的RSD<2%;加样回收率为98.27%~99.56% (RSD=0.68%, $n=6$)。结论:该研究所建标准可用于龙胆配方颗粒的质量控制。
关键词 龙胆;配方颗粒;薄层色谱法;高效液相色谱法;质量标准

Study on the Quality Standard of *Gentiana scabra* Dispensing Granule

LI Haibing, ZHANG Xia, ZHOU Yongyan, WANG Zhengpin, ZHANG Yanyan, LI Junshan, CHEN Junxia (Shine-way Pharmaceutical Group Co., Ltd., Shijiazhuang 051430, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard for *Gentiana scabra* dispensing granule. METHODS: TLC was adopted to identify *G. scabra* in the preparation; HPLC was adopted to determine the content of gentiopicroside in the preparation: the column was Dionex C₁₈ with mobile phase of methanol - water (25:75, V/V) at a flow rate of 1.0 ml/min, the detection wavelength was 270 nm, column temperature was 30 ℃, the injection volume was 10 μl. RESULTS: TLC showed clear spots and good separation. The linear range of gentiopicroside injection volume was 0.302 6-3.026 μg ($r=0.999\ 9$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%; recovery was 98.27%-99.56% (RSD=0.68%, $n=6$). CONCLUSIONS: The established standard can be used for the quality control of *Gentiana scabra* dispensing granule.
KEYWORDS *Gentiana scabra*; Dispensing granule; TLC; HPLC; Quality standard

龙胆为龙胆科植物龙胆*Gentiana scabra* Bge.的根及根茎^[1]。又称龙胆草、胆草等,具有泻肝胆实火、除下焦湿热等功效。中药配方颗粒作为一种新型中药饮片,近年来发展迅速^[2],是以中药饮片为原料,按照一定生产工艺制成的提取物,与适宜的辅料或药材细粉,制成的仅供临床调剂用的颗粒剂^[3]。大量临床实践和药理研究证明,中药配方颗粒具有与传统煎剂相同的疗效和药理作用,同时具有比服用传统中药煎剂更方便、安全性和疗效更有保证等优点^[4]。龙胆配方颗粒采用2015年版《中国药典》(一部)规定的龙胆饮片为原料,通过工业化提取、分离、浓缩、干燥、制粒等制成,基本保证了其有效成分和功效。本研究对龙胆配方颗粒进行薄层色谱(TLC)鉴别,采用高效液相色谱(HPLC)法测定龙胆配方颗粒中有效成分龙胆苦苷的含量,为开拓配方颗粒产业化之路提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

U3000型高效液相色谱系统,包括Ultimate 3000四元泵、Ultimate 3000自动进样器、Ultimate 3000二极管阵列检测器、变色龙色谱工作站(美国Dionex公司);101-1AB型电热鼓风

干燥箱(天津市泰斯特仪器有限公司);CP225D型电子分析天平(德国Sartorius公司)。

1.2 药品与试剂

龙胆配方颗粒(神威药业集团有限公司,批号:14062007、14062008、14062009,规格:0.7 g/袋);龙胆苦苷对照品(批号:110770-201013,纯度:99.1%)、龙胆对照药材(批号:121530-200501)均购自中国食品药品检定研究院;硅胶G薄层板(青岛海洋化工厂);甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 龙胆的薄层鉴别

取样品1.4 g,研细,加甲醇20 ml,超声(功率:300 W,频率:40 kHz,下同),处理15 min,滤过,滤液作为供试品溶液。另取龙胆苦苷对照品,加甲醇制成每1 ml含1 mg龙胆苦苷的对照品溶液。再取龙胆对照药材0.5 g,水提取后,同供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。按TLC法[2015年版《中国药典》(一部)]^[1]试验,吸取上述供试品溶液和对照品溶液各2 μl、对照药材溶液5 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以乙酸乙

口:海南师范大学,2012。

^Δ 基金项目:国家中医药管理局科技项目(No.2013X07);河北省科技计划项目(No.14272504D)

* 工程师。研究方向:生产技术管理、研发。E-mail: hongqingting1001@sina.com

[#] 通信作者:工程师。研究方向:药物研发及产业化。E-mail: chenchenjyt@126.com

[12] 李争玲,王旭波,冉顶诗,等.香玲子的化学成分研究[J].中国药房,2013,24(27):2 540.

[13] 初明,魏兰兰,胡志强.白黎芦醇的化学防癌作用及其分子机制的研究进展[J].中国新药与临床杂志,2005,24(3):235.

(收稿日期:2015-12-20 修回日期:2016-01-18)
(编辑:张 静)

酯-甲酸-水(10:2:1, *V/V/V*)为展开剂,置于氨蒸气饱和的展开缸内,展开,取出,晾干,置紫外光灯(254 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位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰,详见图1。

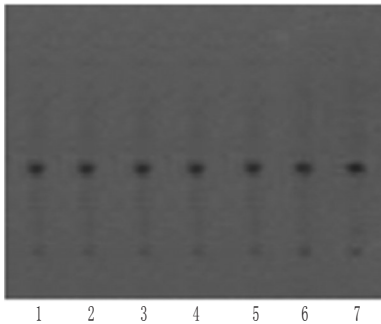


图1 龙胆的薄层色谱图
1.对照药材;2.对照品;3~7.供试品
Fig 1 TLC chromatograms of *G. scabra*
1.control medicinal herb; 2.reference substance; 3-7.test sample

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件^[5-6] 色谱柱:Dionex C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水(25:75, *V/V*);流速:1.0 ml/min;检测波长:270 nm;柱温:30 ℃;进样量:10 μl。在上述色谱条件下,理论板数以龙胆苦苷峰计不少于3 000,分离度>1.5,各成分基线分离良好。色谱见图2。

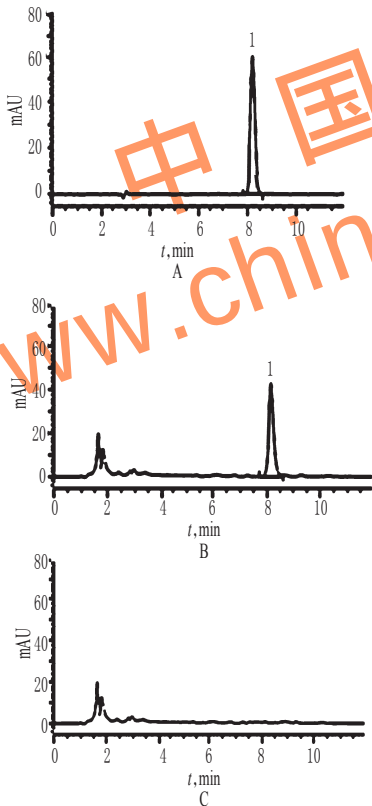


图2 高效液相色谱图
A.对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.龙胆苦苷
Fig 2 HPLC chromatograms
A.reference substance; B.test sample; C.negative control; 1.gentiopicroside

2.2.2 对照品溶液的制备 取龙胆苦苷对照品0.5 g,精密称定,加甲醇溶解并稀释成每1 ml含0.20 mg龙胆苦苷的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取样品适量,研细,精密称取0.1 g,精密加入甲醇25 ml,称定质量,超声处理15 min,放冷,再次称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液5 ml,置于10 ml量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得。

2.2.4 阴性对照溶液的制备 按龙胆配方颗粒处方和制备工艺制备缺龙胆的阴性样品,并按“2.2.3”项下方法制成阴性对照溶液。

2.2.5 线性关系考察 分别精密量取“2.2.2”项下对照品溶液倍比稀释,制成质量浓度为0.030 26~0.302 6 μg/μl的系列对照品溶液。精密量取上述系列对照品溶液各10 μl,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以龙胆苦苷进样量(*x*, μg)为横坐标、峰面积(*y*)为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $y=2.372\ 4\times10^{-7}x-2.651\ 3\times10^{-3}$ ($r=0.999\ 9$)。结果表明,龙胆苦苷检测进样量线性范围为0.302 6~3.026 μg。

2.2.6 精密度试验 取“2.2.2”项下对照品溶液适量,按“2.2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,龙胆苦苷峰面积的RSD=1.1%($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.2.7 稳定性试验 取“2.2.3”项下供试品溶液(批号:14062007)适量,分别于室温下放置0、1、2、4、6、8 h时进样测定,记录峰面积。结果,龙胆苦苷峰面积的RSD=0.8%($n=6$),表明供试品溶液在8 h内基本稳定。

2.2.8 重复性试验 精密称取同一批样品(批号:14062007)适量,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,计算含量。结果,龙胆苦苷含量平均值为47.76 mg/g, RSD=0.90%,表明本方法重复性良好。

2.2.9 加样回收率试验 取已知含量样品(批号:14062007)6份,每份50 mg,分别加入一定质量的龙胆苦苷对照品,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,计算样品含量并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果($n=6$)

Tab 1 Results of recovery tests ($n=6$)					
样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
2.284 0	2.248 5	4.522 5	99.56	98.94	0.68
2.308 0	2.248 5	4.531 7	98.90		
2.288 0	2.248 5	4.518 1	99.18		
2.290 0	2.248 5	4.514 6	98.94		
2.262 0	2.248 5	4.483 4	98.79		
2.242 0	2.248 5	4.451 6	98.27		

2.2.10 样品含量测定 取3批样品各适量,分别按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,计算样品含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果($n=3$)

Tab 2 Results of content determination of samples ($n=3$)		
批号	龙胆苦苷,mg/g	平均值,mg/g
14062007	47.9	47.0
14062008	46.3	
14062009	46.8	

3 讨论

现代药理学研究表明,龙胆泻肝胆实火、除下焦湿热,具有保肝、利胆、健胃、中枢兴奋作用的同时抗菌、抗炎作用也很明显^[7-8],用于湿热黄疸、阴肿阴痒、带下、湿疹的治疗,疗效明确^[9]。本研究先通过TLC法对制剂中龙胆进行鉴别,然后测定制剂中龙胆苦苷的含量,建立了一套全面评价龙胆配方颗粒质量标准的检测方法,同时也为我国中药配方颗粒新剂型的国际化道路提供了借鉴^[10]。

HPLC法同时测定好胃来软胶囊中木香炔内酯和去氢木香内酯的含量^Δ

赵明明*,陈宇婷,黄帮蕊,金向群[#](吉林大学药学院,长春 130021)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)15-2099-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.15.28

摘要 建立同时测定好胃来软胶囊中木香炔内酯和去氢木香内酯含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Dikma C₁₈,流动相为乙腈-水(V/V,55:45),流速为1.0 ml/min,检测波长为225 nm,柱温为25 ℃,进样量为10 μl。结果:木香炔内酯、去氢木香内酯检测质量浓度线性范围分别为24.00~108.00 μg/ml($r=0.999\ 7$)、20.88~93.98 μg/ml($r=0.999\ 8$);精密度、稳定性、重复性试验的RSD<1%;加样回收率分别为98.71%~100.00%(RSD=0.25%, $n=6$)、96.88%~99.18%(RSD=0.40%, $n=6$)。结论:该方法操作简便、稳定性和重复性好,可用于好胃来软胶囊中木香炔内酯和去氢木香内酯含量的同时测定。

关键词 好胃来软胶囊;高效液相色谱法;木香炔内酯;去氢木香内酯

Simultaneous Determination of the Costunolide and Dehydrocostus Lactone in Haoweilai Soft Capsule by HPLC

ZHAO Mingming, CHEN Yuting, HUANG Bangrui, JIN Xiangqun (School of Pharmacy, Jilin University, Changchun 130021, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the simultaneous determination of costunolide and dehydrocostus lactone in Haoweilai soft capsule. METHODS: HPLC was performed on the column of Dikma C₁₈ with mobile phase of acetonitrile - water (V/V, 55:45) at a flow rate of 1.0 ml/min, detection wavelength was 225 nm, column temperature was 25 ℃, and the injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear range were 24.00-108.00 μg/ml($r=0.999\ 7$) for costunolide and 20.88-93.98 μg/ml for dehydrocostus lactone ($r=0.999\ 8$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 1%; recoveries were 98.71%-100.00% (RSD=0.25%, $n=6$) and 96.88%-99.18% (RSD=0.40%, $n=6$). CONCLUSIONS: The method is simple with good stability and reproducibility, and can be used for the simultaneous determination of costunolide and dehydrocostus lactone in Haoweilai soft capsule.

KEYWORDS Haoweilai soft capsule; HPLC; Costunolide; Dehydrocostus lactone

试验是依据2015年版《中国药典》(一部)龙胆项下鉴别方法进行的,采用乙酸乙酯-甲醇-水(10:2:1, V/V/V)作为展开剂,可得到清晰的斑点,将展开剂更换为乙酸乙酯-甲醇-水(15:2:1, V/V/V),亦可得到清晰的斑点。

查阅相关文献,龙胆中主要成分为龙胆苦苷^[11-12],本试验以水为溶剂进行提取,水溶性成分龙胆苦苷的含量较高,可为龙胆的应用开发提供新的途径。

综上所述,本研究所建标准可用于龙胆配方颗粒的质量控制。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版. 北京:中国医药科技出版社, 2015:96.
[2] 吴镒, 赵忠慧. 中药配方颗粒的应用与研究[J]. 中国医药导报, 2011, 8(25):10.
[3] 仇法新, 高福君. 中药配方颗粒的发展现状及应用前[J]. 中国药房, 2007, 18(3):163.

[4] 张红梅, 宋景政, 谭红胜, 等. 中药配方颗粒20年回顾与展望[J]. 世界科学技术, 2012, 14(4):1 740.
[5] 朱鹤云, 关皎, 郭小存, 等. RP-HPLC法同时测定龙胆中3种活性成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(12):2 298.
[6] 冯波, 朱鹤云, 关皎, 等. HPLC同时测定龙胆中4种活性成分含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(13):82.
[7] 杨书彬, 王承. 龙胆化学成分和药理作用研究进展[J]. 中医药学报, 20005, 33(6):54.
[8] 唐庆栓. 龙胆的临床研究进展[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2011, 32(13):2 156.
[9] 韩伟, 周刚, 康廷国. 从美国首个批准植物药 veregen 软膏看我国中药质量控制[J]. 中国新药与临床杂志, 2010, 29(4):244.
[10] 郑楠楠, 王宝庆, 孙晓雪, 等. 龙胆质量检测方法的研究进展[J]. 生命科学仪器, 2014, 12(2):25.
[11] 敖茂宏, 宋智琴. 黔产龙胆不同部位中龙胆苦苷的含量测定[J]. 西南农业学报, 2010, 23(5):1 773.
[12] 王琳琳, 宋新波, 李薇, 等. 龙胆中龙胆苦苷的分离纯化[J]. 现代中药研究与实践, 2013, 27(5):38.

Δ 基金项目:吉林省科技发展计划项目(No.20130727072YY)
* 硕士研究生. 研究方向:新药研发与新剂型. E-mail: 929527931@qq.com
[#] 通信作者:教授, 博士生导师. 研究方向:新药研发与新剂型. E-mail: 13844090377@163.com

(收稿日期:2016-01-15 修回日期:2016-02-21)
(编辑:张 静)