

舒痛安 I 号胶囊的质量标准研究[△]

李腾霞^{1*}, 黄木土^{1#}, 谢新民¹, 晏明¹, 李冬¹, 邹学军², 米海鹏²(1.广州军区广州总医院, 广州 510010; 2.解放军第92390部队医院, 广州 510000)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)03-0375-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.03.30

摘要 目的:建立舒痛安 I 号胶囊的质量标准。方法:采用薄层色谱(TLC)法对制剂中枳壳、连翘进行定性鉴别。采用高效液相色谱(HPLC)法测定制剂中柚皮苷的含量:色谱柱为 Agilent C₁₈, 流动相为乙腈-水(20:80, V/V), 流速为 1.0 ml/min, 检测波长为 283 nm, 柱温为 30 ℃, 进样量为 10 μl; 采用 HPLC 法测定制剂中连翘苷的含量:色谱柱为 Agilent TC-C₁₈, 流动相为乙腈-水(23:77, V/V), 流速为 1.0 ml/min, 检测波长为 277 nm, 柱温为 30 ℃, 进样量为 10 μl。结果:枳壳、连翘的 TLC 图斑点清晰, 分离度好。柚皮苷和连翘苷检测质量浓度线性范围分别为 57.843~289.214 μg/ml($r=0.999\ 9$)、37.434~187.169 μg/ml($r=0.999\ 6$); 精密性、稳定性、重复性试验的 RSD<2%; 加样回收率分别为 97.20%~102.04% (RSD=1.7%, $n=9$)、97.14%~102.27% (RSD=2.0%, $n=9$)。结论:所建标准可用于舒痛安 I 号胶囊的质量控制。

关键词 舒痛安 I 号胶囊; 薄层色谱法; 柚皮苷; 连翘苷; 高效液相色谱法

Research on the Improvement of Quality Standard for Shutongan I Granule

LI Tengxia¹, HUANG Mutu¹, XIE Xinmin¹, YAN Ming¹, LI Dong¹, ZOU Xuejun², MI Haipeng²(1.General Hospital of Guangzhou Military Command of PLA, Guangzhou 510010, China; 2.PLA 92390 Army Hospital, Guangzhou 510000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard for Shutongan I granule. METHODS: TLC was conducted for the qualitative identification of *Citrus aurantium* and *Forsythia suspensa*. HPLC was conducted for the content determination of naringin in the preparation; the column was Agilent C₁₈ with mobile phase of acetonitrile-water(20:80, V/V) at a flow rate of 1.0 ml/min, the detection wavelength was 283 nm, the column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 10 μl. HPLC was also used for the content determination of phillyrin; the column was Agilent TC-C₁₈ with mobile phase of acetonitrile - water (23:77, V/V) at a flow rate of 1.0 ml/min, the detection wavelength was 277 nm, the column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 10 μl. RESULTS: The *C. aurantium* and *F. suspensa* of TLC showed clear spots and good separation. The linear range was 57.843-289.214 μg/ml for naringin($r=0.999\ 9$) and 37.434-187.169 μg/ml for phillyrin($r=0.999\ 6$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were less than 2%; recoveries were 97.20%-102.04% (RSD=1.7%, $n=9$) and 97.14%-102.27% (RSD=2.0%, $n=9$), respectively. CONCLUSIONS: The standard can be used for the quality control of Shutongan I granule.

KEYWORDS Shutongan I granules; TLC; Naringin; Phillyrin; HPLC

舒痛安 I 号胶囊处方来源于明·王肯堂《证治准绳》“祛风一醉散”及广西民间验方, 临床多用于海洛因、鸦片、吗啡、大麻、杜冷丁等精神药物依赖患者的戒断前期治疗。该药处方由连翘、金银花、枳壳等组成, 具有扶正祛邪、解毒止痛、清心除烦之效^[1-2]。方中君药连翘为清热解毒药, 临床常见应用^[3]。为有效控制该制剂质量, 保证临床用药的安全性和有效性, 笔者采用薄层色谱(TLC)法对其中枳壳、连翘进行了定性鉴别, 并采用高效液相色谱(HPLC)法对柚皮苷、连翘苷进行了含量测定, 以建立其质量标准。

1 材料

1.1 仪器

△ 基金项目: 军队医疗机构制剂标准单品种研究项目(No.14TG0186); 广州市科技计划项目(No.201509010012)

* 药师。研究方向: 中药制剂质量控制。电话: 020-88654187。E-mail: ltx0402@163.com

通信作者: 主管药师。研究方向: 中药制剂开发及有效成分分析。电话: 020-36652004。E-mail: huangmutu@126.com

1100 型 HPLC 仪, 包括二级管阵列检测器(美国 Agilent 公司); BP211D 型电子分析天平(德国 Sartorius 公司); SHZ-D III 型循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司)。

1.2 药品与试剂

舒痛安 I 号胶囊(广州军区广州总医院药剂科自制, 批号: 140328、140508、140625, 规格: 0.5 g/粒); 枳壳对照药材(批号: 120981-200403)、连翘对照药材(批号: 120908-200914)、柚皮苷对照品(批号: 110796-201118, 纯度: 94.7%)、连翘苷对照品(批号: 110757-200206, 纯度: 95.3%)均购自中国食品药品检定研究院; 乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为双蒸水。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别

2.1.1 枳壳 取样品内容物 4 g, 加甲醇 20 ml, 置水浴上加热回流 1 h, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加 2 ml 甲醇使溶解, 作为供试品溶液。取柚皮苷对照品 1 mg, 加甲醇 2 ml 使溶解, 制成每 1 ml 含 0.5 mg 柚皮苷的对照品溶液。另取枳壳对照药材 1 g, 加水

200 ml,加热回流1 h,滤过,滤液蒸干,残渣加2 ml无水乙醇使溶解,作为对照药材溶液。按舒痛安 I 号胶囊处方和制备工艺制备枳壳的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照溶液。按 TLC 法[2010年版《中国药典》(一部)附录 VIB]^[4] 试验,吸取供试品溶液、对照品溶液、阴性对照溶液各 2 μl 和对照药材溶液 1 μl,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以二氯甲烷-异丙醇-甲醇-冰乙酸(3:4:5:0.5, V/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,喷以 3% 三氧化铝乙醇溶液,于 105 ℃ 加热至斑点显色清晰,置紫外光灯(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位置上显相同颜色的斑点,且阴性对照无干扰,详见图 1。

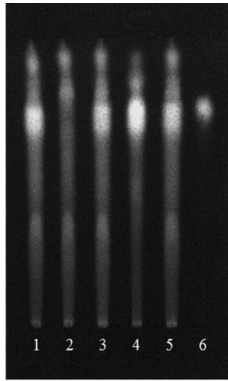


图 1 枳壳的薄层色谱图

1, 3, 4. 供试品; 2. 阴性对照; 5. 对照药材; 6. 对照品

Fig 1 TLC chromatograms of Citrus aurantium

1, 3, 4. test samples; 2. negative control; 5. control medicinal material; 6. reference substance

2.1.2 连翘^[5] 取样品内容物 6 g,加水 200 ml,电热套加热回流 1 h,滤过,滤液蒸干,残渣加 2 ml 无水乙醇使溶解,作为供试品溶液。取连翘苷对照品 1 mg,加无水乙醇 2 ml 使溶解完全,制成每 1 ml 含 0.5 mg 连翘苷的对照品溶液。另取连翘对照药材 1 g,加水 100 ml,加热回流 1 h,滤过,滤液蒸干,残渣加 2 ml 无水乙醇使溶解,作为对照药材溶液。按舒痛安 I 号胶囊处方和制备工艺制备缺连翘的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照溶液。按 TLC 法[2010年版《中国药典》(一部)附录 VIB]^[6] 试验,吸取供试品溶液、对照药材溶液、阴性对照溶液各 15 μl 和对照品溶液 10 μl,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以二氯甲烷-甲醇(10:2, V/V)为展开剂,置于氨蒸气饱和的展开缸内,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,于 115 ℃ 加热至斑点显色清晰,日光下检视。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,且阴性对照无干扰,详见图 2。

2.2 柚皮苷的含量测定^[6-7]

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱: Agilent C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水(20:80, V/V); 检测波长: 283 nm; 流速: 1.0 ml/min; 柱温: 30 ℃; 进样量: 10 μl。在上述色谱条件下,理论板数以柚皮苷峰计不少于 3 000,分离度 > 1.5,各成分基线分离良好。色谱见图 3。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取柚皮苷对照品 15.27 mg,

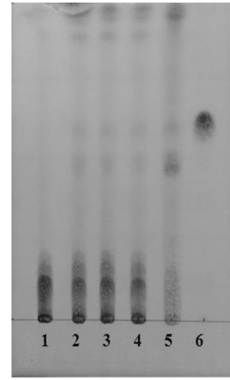


图 2 连翘的薄层色谱图

1. 阴性对照; 2~4. 供试品; 5. 对照药材; 6. 对照品

Fig 2 TLC chromatograms of Forsythia suspensa

1. negative control; 2-4. test samples; 5. control medicinal material; 6. reference substance

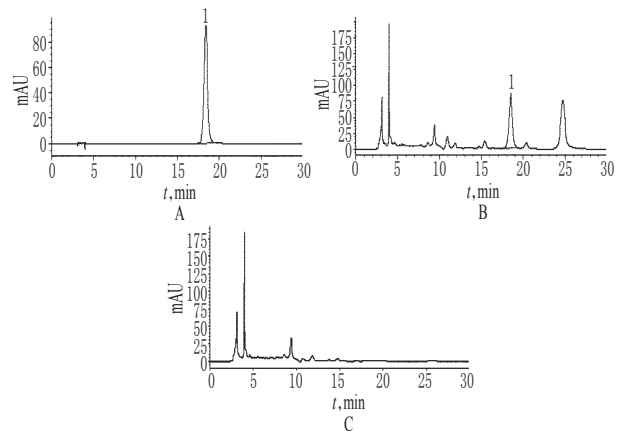


图 3 柚皮苷的高效液相色谱图

A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 柚皮苷

Fig 3 HPLC chromatograms of naringin

A. reference substance; B. test samples; C. negative control; 1. naringin 置于 50 ml 量瓶中,加甲醇定容,摇匀,制成每 1 ml 含 289.214 μg 柚皮苷的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取样品内容物约 2.0 g,精密称定,置于 100 ml 圆底烧瓶中,加入甲醇 50 ml,水浴回流 1.5 h,放冷,滤纸滤过至 100 ml 量瓶中,用甲醇润洗烧瓶 3 次,每次 10 ml,并用适量甲醇冲洗滤纸,合并滤液,用甲醇定容,摇匀,滤过,弃去初滤液,取续滤液,即得。

2.2.4 阴性对照溶液的制备 按舒痛安 I 号胶囊处方和制备工艺制备缺枳壳的阴性样品,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 精密吸取“2.2.2”项下对照品溶液 2、4、6、8、10 ml,分别置于 10 ml 量瓶中,加甲醇定容,摇匀,制成质量浓度分别为 57.843、115.686、173.528、231.371、289.214 μg/ml 的系列对照品溶液。精密吸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。以柚皮苷质量浓度(x, μg/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $y = 15.5653x - 8.3590$ ($r = 0.9999$)。结果表明,柚皮苷检测质量浓度线性范围为 57.843~289.214 μg/ml。

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,

柚皮苷峰面积的RSD=0.4% (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:140328)适量,分别于放置0、2、4、6、8、10、12 h时进样测定,记录峰面积。结果,柚皮苷峰面积的RSD=1.4% (n=7),表明供试品溶液在12 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:140328)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,记录峰面积。结果,柚皮苷峰面积的RSD=1.7% (n=6),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:140328)适量,共9份,分别加入高、中、低质量的柚皮苷对照品,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,计算柚皮苷含量并计算加样回收率,结果见表1。

表1 柚皮苷的加样回收率试验结果(n=9)

Tab 1 Results of recovery test of naringin (n=9)

取样量,g	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,%
0.800 2	7.145	7.259	14.410	100.08		
0.804 5	7.184	7.259	14.275	97.69		
0.799 8	7.142	7.259	14.453	100.72		
1.004 5	8.970	9.074	17.955	99.02		
1.008 2	9.003	9.074	17.852	97.52	99.20	1.7
1.001 6	8.944	9.074	17.764	97.20		
1.204 8	10.758	10.889	21.681	100.31		
1.205 5	10.765	10.889	21.458	98.20		
1.204 5	10.756	10.889	21.867	102.04		

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并计算柚皮苷含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果(n=9,mg/g)

Tab 2 Results of contents determination of samples (n=9, mg/g)

批号	柚皮苷	连翘苷
140328	8.930	0.369
140508	7.902	0.375
140625	8.527	0.375

2.3 连翘苷的含量测定^[8-9]

2.3.1 色谱条件 色谱柱:Agilent TC-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(23:77, V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:277 nm;柱温:30 ℃;进样量:10 μl。在上述色谱条件下,理论板数以连翘苷峰计不少于3 000,分离度>1.5,各成分基线分离良好。色谱见图4。

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称取连翘苷对照品19.64 mg,置于50 ml量瓶中,加甲醇定容,摇匀,制成每1 ml含187.169 μg连翘苷的对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 精密移取“2.2.3”项下供试品溶液50 ml,置水浴上蒸干,置于5 ml量瓶中,加甲醇定容,摇匀,滤过,弃去初滤液,取续滤液,即得。

2.3.4 阴性对照溶液的制备 按舒痛安I号胶囊处方和制备工艺制备缺连翘的阴性样品,按“2.3.3”项下方法制成阴性对照溶液。

2.3.5 线性关系考察 精密吸取“2.3.2”项下对照品溶液2、4、

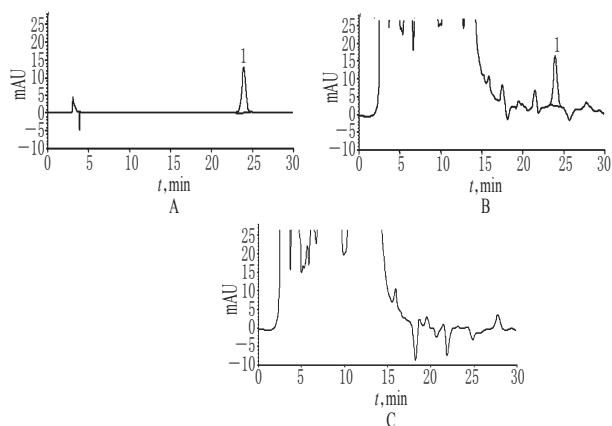


图4 连翘苷的高效液相色谱图

A.对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.连翘苷

Fig 4 HPLC chromatograms of phillyrin

A.reference substance; B. test samples; C. negative control; 1.phillyrin 6、8、10 ml,分别置于10 ml量瓶中,加甲醇定容,摇匀,制成质量浓度分别为37.434、74.868、112.302、149.74、187.169 μg/ml的系列对照品溶液。精密吸取上述系列对照品溶液各10 μl,按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以连翘苷质量浓度(x, μg/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $y=6.140 7x-8.701 0$ ($r=0.999 6$)。结果表明,连翘苷检测质量浓度线性范围为37.434~187.169 μg/ml。

2.3.6 精密度试验 取“2.3.2”项下对照品溶液适量,按“2.3.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,连翘苷峰面积的RSD=0.5% (n=6),表明仪器精密度良好。

2.3.7 稳定性试验 取“2.3.3”项下供试品溶液(批号:140328)适量,分别于放置0、2、4、6、8、10、12 h时进样测定,记录峰面积。结果,连翘苷峰面积的RSD=1.3% (n=7),表明供试品溶液在12 h内基本稳定。

2.3.8 重复性试验 精密称取同一批样品(批号:140328)适量,按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,连翘苷峰面积的RSD=0.9% (n=6),表明本方法重复性良好。

2.3.9 加样回收率试验 取已知含量样品(批号:140328)适量,共9份,分别加入高、中、低质量的连翘苷对照品,按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,计算连翘苷含量并计算加样回收率,结果见表3。

表3 连翘苷的加样回收率试验结果(n=9)

Tab 3 Results of recovery test of phillyrin (n=9)

取样量,g	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,%
0.800 0	0.295 0	0.302 7	0.603 2	101.82		
0.804 5	0.296 5	0.302 7	0.600 0	100.26		
0.799 8	0.294 8	0.302 7	0.592 8	98.45		
1.004 5	0.370 3	0.378 3	0.757 2	102.27		
1.008 2	0.371 6	0.378 3	0.757 3	101.96	99.98	2.0
1.001 6	0.369 2	0.378 3	0.752 0	101.19		
1.204 8	0.444 1	0.454 0	0.891 3	98.50		
1.205 5	0.444 4	0.454 0	0.885 4	97.14		
1.204 5	0.444 0	0.454 0	0.890 1	98.26		

2.3.10 样品含量测定 取3批样品各适量,分别按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.3.1”项下色谱条件进样测定

HPLC法测定藤梨根中表儿茶素的含量^Δ

赫军*,马秉智,梁莹莹,王晓雪,刘晓*(中日友好医院药学部,北京 100029)

中图分类号 R284.1;R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)03-0378-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.03.31

摘要 目的:建立测定藤梨根中表儿茶素含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Kromasil C₁₈,流动相为乙腈-0.2%乙酸溶液(15:85, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为210 nm,柱温为25 ℃,进样量为10 μl。结果:表儿茶素的检测质量浓度线性范围为10.47~167.52 μg/ml($r=0.999\ 9$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD<2%;加样回收率为98.07%~101.71%,RSD=1.39%($n=6$)。结论:该方法操作简便、结果准确,适用于藤梨根中表儿茶素的含量测定。

关键词 高效液相色谱法;藤梨根;表儿茶素;含量测定

Content Determination of *L*-epicatechin in *Actinidia arguta* by HPLC

HE Jun, MA Bingzhi, LIANG Yingying, WANG Xiaoxue, LIU Xiao (Dept. of Pharmacy, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of *L*-epicatechin in *Actinidia arguta*. METHODS: HPLC was performed on the column of Kromasil C₁₈ with mobile phase of acetonitrile-0.2% Acetic acid solution (15:85, V/V) at a flow rate of 1.0 ml/min, detection wavelength was 210 nm, column temperature was 25 ℃, and the volume injection was 10 μl. RESULTS: The linear range of *L*-epicatechin was 10.47-167.52 μg/ml ($r=0.999\ 9$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%; average recovery was 98.07%-101.71% (RSD=1.39%, $n=6$). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reliable, and suitable for the content determination of *L*-epicatechin in *A. arguta*.

KEYWORDS HPLC; *Actinidia arguta*; *L*-epicatechin; Content determination

并计算连翘量含量,结果见表2。

3 讨论

本试验中TLC研究所得的色谱斑点清晰,供试品与对照品色谱对应良好,且阴性对照无干扰,可作为本品的鉴别方法。HPLC条件分离效果好,峰形对称,保留时间适宜,杂质峰达到基线分离,阴性无干扰,可用于本品的含量测定。本试验也曾对方中另外几味药(夏枯草、乌梅、茯神等)进行TLC鉴别,结果表明,以上3种药材的阴性对照与对照药材或对照品均在相同位置出现相同颜色的斑点,考虑枳壳、连翘在处方中药理作用甚为明显,所以采用TLC法对本品中的枳壳、连翘进行定性鉴别。

在色谱条件的选取中,曾考虑用双波长检测法,用相同的流动相乙腈-水(23:77, V/V)时,主峰柚皮苷不能完全分开;流动相为乙腈-水(25:75, V/V)时,在连翘苷出峰的位置有干扰;流动相为乙腈-水(20:80, V/V)时,连翘苷出峰时间太晚。也曾考虑用梯度洗脱的方法,但效果不是很明显。最后确定两种成分以不同方法检测。

综上所述,本研究所建标准可用于舒痛安I号胶囊的质量控制。

^Δ 基金项目:北京市自然科学基金资助项目(No.7154237);中日友好医院青年课题(No.2014-1-QN-2)

* 主管药师,博士。研究方向:中药药效物质基础及质量标准。E-mail: hj811229@126.com

通信作者:副主任药师,硕士。研究方向:医院药学。电话:010-84206020。E-mail: liuxiao@liuxiao.com

参考文献

- [1] 林丽美,王智民,王金华,等.金银花、连翘及银翘药对水煎剂的抗炎、解热作用研究[J].中国中药杂志,2008,33(4):473.
- [2] Hayakawa T, Takanaga A, Tanaka K, et al. Ultrastructure of the rostral ventral respiratory group neurons in the ventrolateral medulla of the rat[J]. *Brain Res*, 2004, 153(2):94.
- [3] 邢学锋.金银花、连翘药对配伍的化学成分研究[D].广州:第一军医大学,2006.
- [4] 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,2010:70.
- [5] 彭凯丽,李新民,李元林,等.正交试验优选复方桑菊口服液中药材的提取工艺[J].中国药房,2014,25(3):243.
- [6] 张艳艳,曹淑娟,陈汝红,等.HPLC法测定接骨七厘片中柚皮苷的含量[J].中国药房,2014,25(28):2676.
- [7] 叶良红,龚晓红,李芸霞,等.青翘和老翘中多种成分含量比较[J].中药与临床,2013,4(2):6.
- [8] 曹晓燕,王东浩,思培峰,等.连翘不同部位连翘苷含量的比较[J].中成药,2009,31(4):642.
- [9] 夏晖,刘峰群,周艳萍,等.HPLC法同时测定连翘中连翘苷和连翘酯苷A的含量[J].解放军药学报,2014,30(1):60.

(收稿日期:2015-09-22 修回日期:2015-11-19)

(编辑:张静)