

金柏胶囊的质量标准研究[△]

雷丸^{1,2*},康玉霞²,王莹²,郭飞燕²,王晓娟^{2#}(1.陕西中医药大学药学院,陕西咸阳 712046;2.第四军医大学口腔医院药剂科/军事口腔医学国家重点实验室,西安 710032)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)30-4245-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.30.24

摘要 目的:为建立金柏胶囊的质量标准提供参考。方法:采用薄层色谱(TLC)法对制剂中黄柏、川楝子进行定性鉴别,采用高效液相色谱(HPLC)法对制剂中盐酸小檗碱进行含量测定。色谱柱为 Diamonsil C₁₈,流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液(50:50, V/V),流速为1 ml/min,检测波长为265 nm,柱温为25℃,进样量为10 μl。结果:制剂中黄柏、川楝子的TLC斑点清晰、分离度好。盐酸小檗碱检测质量浓度线性范围为0.044~0.154 mg/ml($r=0.999\ 9$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD≤2.0%;加样回收率为98.36%~102.15%,RSD为1.11%($n=9$)。结论:该方法操作简便、结果准确、重复性好,可用于金柏胶囊的质量控制。

关键词 金柏胶囊;盐酸小檗碱;薄层色谱法;高效液相色谱法

Study on the Quality Standard of Jinbo Capsule

LEI Wan^{1,2*}, KANG Yu-xia², WANG Ying², GUO Fei-yan², WANG Xiao-juan²(1.College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Shaanxi Xianyang 712046, China; 2.Dept. of Pharmacy, School of Stomatology, the Fourth Military Medical University/State Key Laboratory of Military Stomatology, Xi'an 710032, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To provide reference for the establishment of quality standard for Jinbo capsule. METHODS: TLC was conducted for the qualitative identification of *Phellodendron chinense* and *Melia toosendan* in preparation; HPLC was used for the content determination of berberine hydrochloride in preparation; the column was Diamonsil C₁₈ with mobile phase of acetonitrile-0.1% phosphoric acid (50:50, V/V) at flow rate of 1 ml/min, detection wavelength was 265 nm, column temperature was 25℃ and volume injection was 10 μl. RESULTS: TLC spots of *P. chinense* and *M. toosendan* in preparation were clear and well-separated. The linear range of berberine hydrochloride was 0.044-0.154 mg/ml ($r=0.999\ 9$); RSDs of precision, reproducibility and stability tests were no more than 2.0%, recovery was 98.36%-102.15% (RSD=1.11%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reproducible, and can be used for the quality control of Jinbo capsule.

KEYWORDS Jinbo capsule; Berberine hydrochloride; TLC; HPLC

复发性口腔溃疡中医称之为口疮、口疔,其临床主要特征为口腔疼痛且反复发作造成缠绵难愈^[1]。中医认为其主要病机为火热(心火、胃火、肝火、虚火)、虚弱(脾气虚、脾阳虚、肾阳虚)^[2]。黄柏具有清热燥湿、泻火除蒸、解毒疗疮之功效;川楝子可疏肝泄热、行气止痛^[3]。金柏胶囊是第四军医大学口腔医院多年来用于治疗复发性口腔溃疡的临床经验方,由黄柏、川楝子、栀子、鸡内金等中药组成,具有清热燥湿、理气止痛、增强免疫细胞活性等作用。笔者本次对其进行了质量标准研究,以为控制该药品质量、保证其疗效提供试验依据。

1 材料

1.1 仪器

LC-2010型高效液相色谱(HPLC)仪,包括SPD-20A紫外检测器(日本岛津公司);DL-720型超声仪(浙江象山石浦海天电子仪器厂);LD5-10型离心机(北京医用离心机厂);BT125D型十万分之一电子天平(德国Sartorius公司);硅胶G薄层板(青岛海洋化工厂)。

[△]基金项目:军队医疗机构制剂标准提高科研专项课题(No.14ZJZ06)

* 硕士研究生。研究方向:中药药剂学。电话:029-84773998。E-mail:18785990@qq.com

通信作者:主任药师。研究方向:天然药物化学与中药新制剂。电话:029-84773189。E-mail:wxyh231@fmmu.edu.cn

1.2 药品与试剂

金柏胶囊(第四军医大学口腔医院自制,批号:140904、140916、140926,规格:200 mg/粒);盐酸小檗碱对照品(批号:110713-200208,纯度:100%);川楝子对照药材(批号:121464-200501)、川楝素对照品(批号:111842-201102,纯度:94.5%)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,水为二次纯化水。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别

2.1.1 黄柏 取样品内容物2.70 g,置于具塞锥形瓶中,加入甲醇15 ml,超声(功率:500 W,频率:35 kHz,下同)处理20 min,滤过,滤液蒸干,用5 ml甲醇复溶制成供试品溶液^[4]。取盐酸小檗碱对照品适量,加甲醇制成每1 ml含0.5 mg的对照品溶液。另取2.70 g缺黄柏的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照溶液。按薄层色谱(TLC)法[2010年版《中国药典》(一部)附录VI B]试验,吸取上述溶液各2 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯-异丙醇-甲醇-水(6:3:1.5:1.5:0.3, V/V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外灯(365 nm)下检视。结果显示,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,且阴性对照无干扰,详见图1A。

2.1.2 川楝子 取样品内容物18.00 g,置于具塞锥形瓶中,加

水 80 ml, 超声处理 60 min, 放冷, 以半径 13.5 cm、2 000 r/min 离心 10 min; 取上清液, 加入 25 ml 二氯甲烷萃取, 取二氯甲烷层, 连续萃取 3 次, 合并萃取液, 蒸干, 残渣加甲醇 2 ml 使溶解, 制成供试品溶液^[3]。取川楝素对照品适量, 加甲醇制成每 1 ml 含 1 mg 的对照品溶液。另取川楝子对照药材 0.60 g 和不含川楝子的阴性样品 18.00 g, 分别按供试品溶液制备方法制成川楝子对照药材溶液和阴性对照溶液。按 TLC 法[2010 年版《中国药典》(一部)附录 VI B]试验, 吸取上述溶液各 10 μ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以二氯甲烷-甲醇(16:1, V/V)为展开剂, 饱和, 展开, 取出, 晾干, 喷以二氨基苯甲醛, 在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰, 置日光下检视。结果显示, 供试品色谱中, 在与对照药材和对照品色谱相应的位置上显相同颜色的斑点, 且阴性对照无干扰, 详见图 1B。

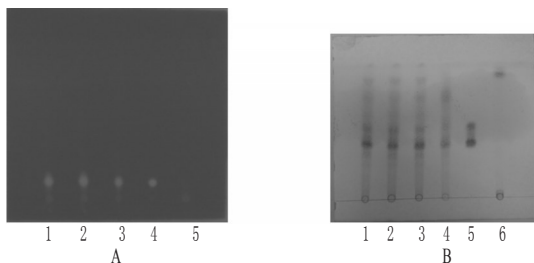


图 1 薄层色谱图

A. 黄柏(1~3. 供试品; 4. 对照品; 5. 阴性对照); B. 川楝子(1~3. 供试品; 4. 对照药材; 5. 对照品; 6. 阴性对照)

Fig 1 TLC chromatograms

A. *Phellodendron chinense* (1-3. test samples; 4. reference substance; 5. negative control); B. *Melia toosendan* (1-3. test samples; 4. control medicinal herb; 5. reference substance; 6. negative control)

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱: Diamonsil C₁₈ (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈-0.1% 磷酸溶液(每 100 ml 加入 0.1 g 十二烷基磺酸钠)(50:50, V/V); 流速: 1 ml/min; 检测波长: 265 nm; 柱温: 25 $^{\circ}$ C; 进样量: 10 μ l。在上述色谱条件下, 理论板数以盐酸小檗碱峰计算应不少于 4 000, 分离度 > 1.5, 各成分基线分离良好, 详见图 2。

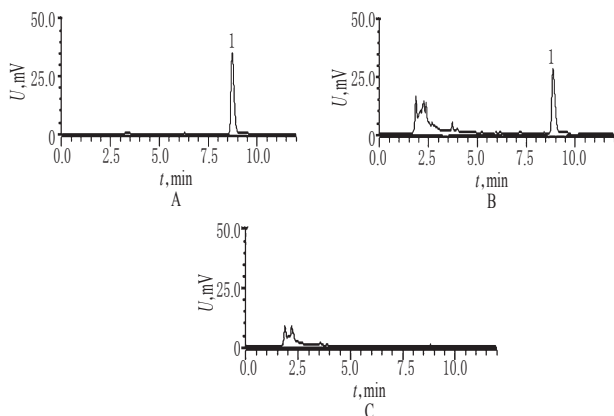


图 2 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 盐酸小檗碱

Fig 2 HPLC chromatograms

A. reference substance; B. test samples; C. negative control; 1. berberine hydrochloride

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取盐酸小檗碱对照品

11.00 mg, 置于 10 ml 量瓶中, 用流动相溶解并定容, 制成质量浓度为 1.1 mg/ml 的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密称取样品内容物约 2.5 g, 置于 100 ml 量瓶中, 加 80 ml 流动相, 超声处理 40 min, 放冷, 加流动相定容, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得^[3]。

2.2.4 阴性对照溶液的制备 按金柏胶囊处方和制备工艺, 制备缺黄柏的阴性样品, 取适量按“2.2.3”项下方法制成阴性对照溶液。

2.2.5 线性关系考察 精密量取“2.2.2”项下对照品溶液 0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 ml, 分别置于 10 ml 量瓶中, 加流动相定容, 制成系列对照品溶液。精密吸取上述系列对照品溶液各 10 μ l, 按“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。以盐酸小檗碱质量浓度(x, mg/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归, 得回归方程为 $y = 3.6 \times 10^7 x + 1\ 934.1$ ($r = 0.999\ 9$)。结果表明, 盐酸小檗碱检测质量浓度线性范围为 0.044~0.154 mg/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 6 次测定, 记录峰面积。结果, 盐酸小檗碱峰面积的 RSD 为 0.31% ($n = 6$), 表明仪器精密度良好。

2.2.7 稳定性试验 取同一供试品溶液(批号: 140904)适量, 分别于放置 0、2、4、8、10、12 h 时进样测定, 记录峰面积。结果, 盐酸小檗碱峰面积的 RSD 为 0.31% ($n = 6$), 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: 140904)适量, 共 5 份, 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, 记录峰面积。结果, 盐酸小檗碱峰面积的 RSD 为 2.00% ($n = 5$), 表明本方法重复性良好。

2.2.9 加样回收率试验 取样品(批号: 140904)适量, 共 9 份, 每 3 份为一组分别加入高、中、低质量浓度的盐酸小檗碱对照品溶液适量, 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加样回收率, 结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果($n = 9$)

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

称样量, 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, %
0.128	0.479	0.383	0.863	100.26		
0.126	0.471	0.377	0.852	101.06		
0.127	0.475	0.380	0.857	100.53		
0.125	0.468	0.468	0.932	99.15		
0.124	0.464	0.464	0.925	99.35	100.18	1.11
0.127	0.475	0.475	0.951	100.21		
0.124	0.464	0.557	1.033	102.15		
0.126	0.471	0.565	1.039	100.53		
0.125	0.468	0.561	1.020	98.36		

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	盐酸小檗碱含量, mg/粒
140904	0.76
140916	0.75
140926	0.77

3 讨论

黄柏 TLC 鉴别中, 笔者根据相关文献^[2-6]考察了不同提取

金乌健骨胶囊的质量标准研究^Δ

周训蓉*, 杨 亮(贵阳中医学院第二附属医院, 贵阳 550001)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)30-4247-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.30.25

摘要 目的:建立金乌健骨胶囊的质量标准。方法:采用显微鉴别法对制剂中的三七进行显微鉴别;采用薄层色谱(TLC)法对制剂中的白芍、青风藤进行定性鉴别;采用高效液相色谱法测定制剂中芍药苷的含量。色谱柱为ZORBAX SB-C₁₈,流动相为乙腈-0.1%磷酸(13:87, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为230 nm,柱温为30 ℃,进样量为10 μl。结果:三七显微鉴别特征明显;白芍、青风藤TLC分离度好、斑点清晰;芍药苷检测质量浓度线性范围为0.014~1.412 μg/ml($r=0.999\ 2$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD<2%;加样回收率为95.73%~99.48%,RSD为1.54%($n=6$)。结论:该方法简便、准确、重复性好,可用于金乌健骨胶囊的质量控制。

关键词 金乌健骨胶囊;质量标准;薄层色谱法;高效液相色谱法;芍药苷;三七;白芍;青风藤

Study on the Quality Standard of Jinwu Jiangu Capsule

ZHOU Xun-rong, YANG Liang (The Second Hospital Affiliated to TCM College of Guiyang, Guiyang 550001, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard of Jinwu jiangu capsule. METHODS: Microscopy was used to identify *Panax notoginseng*; TLC was used to identify *Paeonia lactiflora* and *Sinomenii* Caulis; HPLC was used to determine the content of paeoniflorin. The column was ZORBAX SB-C₁₈ with mobile phase of acetonitrile -0.1% phosphoric acid (13:87, V/V) at a flow rate of 1.0 ml/min, detection wavelength was 230 nm, column temperature was 30 ℃ and injection volume was 10 μl. RESULTS: Microscopy showed *P. notoginseng* had obvious features; *P. lactiflora* and *Sinomenii* Caulis in preparation were well-separated with clear spots. The linear range of paeoniflorin was 0.014-1.412 μg/μl ($r=0.999\ 2$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%; recovery was 95.73%-99.48% (RSD=1.54%, $n=6$). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reproducible, and can be used for the quality control of Jinwu jiangu capsule.

KEYWORDS Jinwu jiangu capsule; Quality standard; TLC; HPLC; Paeoniflorin; *Panax notoginseng*; *Paeonia lactiflora*; *Sinomenii* Caulis

溶剂如甲醇、1%醋酸-甲醇、80%丙酮-乙醇-氯仿等对盐酸小檗碱提取效果的影响,结果以甲醇提取效果最好。并考察了超声和回流两种提取方法,结果二者提取效果差异无统计学意义,因超声提取简便易行,故选择超声提取法。另外,还比较了苯-乙酸乙酯-异丙醇-甲醇-浓氨溶液(6:3:1.5:1.5:0.5, V/V/V/V)和环己烷-乙酸乙酯-异丙醇-甲醇-水(6:3:1.5:1.5:0.3, V/V/V/V)两种展开剂,发现前者斑点拖尾严重而后者斑点清晰。故最终确定了上述黄柏TLC鉴别方法。

川楝子TLC鉴别中,由于川楝子含有脂肪油,对鉴别干扰较大^[4],因此比较了用乙醇、乙酸乙酯、水进行前处理的效果。结果发现,水提效果最好,故选用水提液进行TLC鉴别。

HPLC法测定中,盐酸小檗碱溶液经紫外扫描,在230、265、300 nm波长处均有较强吸收,而选用265 nm为检测波长可避免测定时其他组分的干扰。预试验中,以乙腈-0.1%磷酸溶液(50:50, V/V)为流动相时发现主成分峰与相邻峰分离较

好,而加入十二烷基磺酸钠可以使流动相的离子对保持稳定,并且能够改善峰形,保证结果可靠。

综上所述,该方法操作简便、结果准确、重复性好,可用于金柏胶囊的质量控制。

参考文献

- [1] 刘俊岭,罗力赛,王玲玲,等.复发性口腔溃疡的中医药治疗进展[J].环球中医药,2012,5(7):552.
- [2] 幸梦琳,张永慧,刘海枝.复发性口腔溃疡的中医药治疗进展[J].光明中医,2013,28(7):1524.
- [3] 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,2010:39,286.
- [4] 丁志军,罗美兰,廖银根,等.金菊解毒颗粒质量考察[J].中国医院药学杂志,2013,33(6):501.
- [5] 车艳楠,曹丽萍,李曙光.加味双柏软膏的制备及质量控制[J].中国药业,2015,24(1):37.
- [6] 董占军,韩桂茹,李桂.颈复康颗粒的一板多信息薄层鉴别研究[J].河北中医,2014,36(1):107.
- [7] 刘红亚,崔红梅.川楝子药材中川楝素的薄层色谱鉴别[J].时珍国医国药,2008,19(7):1674.

(收稿日期:2014-12-26 修回日期:2015-05-08)

(编辑:张 静)

^Δ基金项目:贵州省优秀科技教育人才省长专项资金项目(No.黔省专合字[2011]86号);贵州省中医药管理局中医药、民族医药科学技术研究课题(No.QZYY2013-70);贵州省科学技术基金项目(No.黔科合LH字[2014]7323号)

*副主任药师。研究方向:医院药学。电话:0851-85283585。E-mail:13308500362@189.cn