

益气健肝颗粒的质量标准研究

鞠楷*, 陈华, 金伟华, 蒲志强(成都军区总医院药学部, 成都 610083)

中图分类号 R284.1;R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)39-3695-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.39.17

摘要 目的:建立益气健肝颗粒的质量标准。方法:采用薄层色谱(TLC)法对益气健肝颗粒中的栀子、陈皮、五味子进行定性鉴别;采用高效液相色谱(HPLC)法测定陈皮中橙皮苷的含量:色谱柱为 Eclipse XDB-C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液(17:83, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为283 nm,柱温为30 ℃。结果:TLC图中,供试品在对照品、对照药材色谱相应位置上显相同颜色的斑点。橙皮苷的质量浓度在0.016~0.160 mg/ml范围内与其峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.9997$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD<2%;平均加样回收率为100.42%,RSD=1.79%($n=9$)。结论:所建标准用于益气健肝颗粒的质量控制。

关键词 益气健肝颗粒;质量标准;栀子;陈皮;五味子;橙皮苷;薄层色谱法;高效液相色谱法

Study on Quality Standard of Yiqi Jiangan Granules

JU Kai, CHEN Hua, JIN Wei-hua, PU Zhi-qiang (Dept. of Pharmacy, General Hospital of Chengdu Military Command, Chengdu 610083, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard of Yiqi jiangan granules. METHODS: *Gardenia jasminoides*, *Citrus reticulata* and *Schisandra chinensis* were qualitatively identified by TLC. The content of hesperidin was determined by HPLC. The determination was performed on Eclipse XDB-C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm) column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphate buffer (17:83, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The column temperature was 30 ℃ and the detection wavelength was set at 283 nm. RESULTS: TLC spots of test sample had same color and chromatogram position to substance control and reference substance. The linear range of hesperidin were 0.016-0.160 mg/ml ($r=0.9997$) with an average recovery of 100.42% (RSD=1.79%, $n=9$). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 2%. CONCLUSIONS: The standard is suitable for the quality control of Yiqi jiangan granules.

KEYWORDS Yiqi jiangan granules; Quality standard; *Gardenia jasminoides*; *Citrus reticulata*; *Schisandra chinensis*; Hesperidin; TLC; HPLC

益气健肝颗粒来源于我院用于治疗乙型肝炎的经验方,主要由茵陈、栀子、五味子、陈皮、柴胡、黄芩、甘草等多味中药

组成,具有疏肝理气、利胆退黄、清利湿热等功效。其原剂型为煎剂,为方便患者使用,我院将其研究开发制成颗粒剂。为

在254、360 nm处有最大吸收,绿原酸在330 nm处有最大吸收,故最终选择360 nm为检测波长时,峰数较多,分离较好,信号响应强度适当。

综上所述,本试验建立的指纹图谱稳定性、重复性好,适用于新疆药桑叶的鉴别和质量控制。

参考文献

[1] 严安定,袁野,吴亮,等.HPLC法同时测定桑叶中芦丁、异槲皮苷、紫云英苷的含量[J].安徽医药,2011,15(3):296.
[2] 孙莲,严雷,石绕呢,等.RP-HPLC测定桑叶、桑枝和桑花中槲皮素和山奈酚的含量[J].药物分析杂志,2005,25(10):1230.
[3] 贾冬冬,李淑芬,杨鸿玲.RP-HPLC法测定桑叶中的芦丁和异槲皮苷含量[J].食品科学,2008,29(8):499.
[4] 孙莲,张丽静,孟磊,等.RP-HPLC法测定桑叶中绿原酸

的含量[J].中成药,2003,34(1):78.

[5] 蒋立娣,宣贵达,吴好好,等.桑叶提取物中槲皮素和山奈酚的含量测定[J].浙江大学学报:理学版,2009,36(6):705.
[6] 李钟,胡海容.桑叶药材HPLC指纹图谱的研究[J].世界中西医结合杂志,2008,2(5):280.
[7] 吴好好,李凡,钱文春,等.浙江湖州桑叶HPLC指纹图谱的研究[J].药物分析杂志,2008,28(3):390.
[8] 游元元,万德光,裴瑾,等.不同品种桑叶高效液相指纹图谱的聚类分析[J].时珍国医国药,2008,19(11):2662.
[9] 王巍,鞠成国,赵焕君,等.急性子中黄酮类成分HPLC指纹图谱的初步研究[J].中成药,2011,33(2):199.
[10] 陈志红,徐美奕,龚先玲.紫荆花黄酮类化合物的HPLC指纹图谱研究[J].中国药房,2010,21(31):2928.
[11] 杨立勇,李雨生,王祥培,等.菝葜药材HPLC指纹图谱的鉴别[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(8):104.
[12] 孔昭琰,胡煜雯,巢建国,等.凤丹皮HPLC指纹图谱研究[J].南京中医药大学学报,2011,27(1):66.

(收稿日期:2013-07-29 修回日期:2014-01-09)

* 药师。研究方向:药物分析。电话:028-86570427。E-mail: jukai2012@sina.com

确保制剂的安全性与有效性,笔者对其进行了质量标准研究,采用薄层色谱(TLC)法鉴别了方中栀子、陈皮、五味子3味中药材,并采用高效液相色谱(HPLC)法对制剂中陈皮的主要有效成分——橙皮苷的含量进行了定量分析。

1 材料

1.1 仪器

1200型HPLC仪,配备四元泵、可变波长检测器、1200型化学工作站(美国安捷伦公司);DU730型紫外-可见分光光度计(美国贝克曼公司);AL204型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司);AP-01P型真空泵(天津奥特赛恩斯仪器公司);SZ-97型自动三重纯水蒸馏器(上海亚荣生化仪器厂)。

1.2 药品与试剂

益气健脾颗粒(成都军区总医院,批号:130601、130602、130603);橙皮苷对照品(批号:110721-201115)、栀子苷对照品(批号:110749-201115)、五味子醇甲对照品(批号:110857-201211)、栀子对照药材(批号:120986-200806)、陈皮对照药材(批号:120969-200808)、五味子对照药材(批号:120922-201007)均由中国食品药品检定研究院提供;水为三重蒸馏水,乙腈、甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 TLC鉴别

2.1.1 栀子的TLC鉴别^[1-4] 取本品10g,研细,加无水乙醇30ml,加热回流30min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇1ml使溶解,作为供试品溶液。另取缺栀子的阴性对照样品10g和栀子对照药材1g,同法制成阴性对照溶液和栀子对照药材溶液。另取栀子苷对照品,加无水乙醇制成每1ml含1mg的溶液,作为对照品溶液。吸取上述4种溶液各2 μ l,分别点于同一硅胶G薄层板上,以乙酸乙酯-丙酮-甲酸-水(10:7:2:0.5, V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,在110℃加热至斑点显色清晰,日光下检视。结果,供试品色谱中,在与对照药材和对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的棕褐色斑点;阴性对照无干扰。栀子的TLC图见图1。

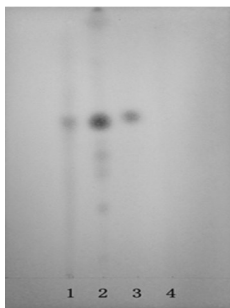


图1 栀子的TLC图

1.供试品;2.栀子对照药材;3.栀子苷对照品;4.阴性对照

Fig 1 TLC of *G. jasminoides*

1.test sample; 2.Gardeniae Fructus reference substance; 3.geniposide control; 4.negative control

2.1.2 陈皮的TLC鉴别^[1,5-6] 取本品10g,研细,加甲醇30ml,超声处理30min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇2ml使溶解,作为供试品溶液。另取缺陈皮的阴性对照样品10g和陈皮对照药材0.5g,同法制成阴性对照溶液和陈皮对照药材溶液。另取橙皮苷对照品,加甲醇制成饱和溶液,作为对照品溶液。吸取上述4种溶液各2 μ l,分别点于同一硅胶G薄层板上,以苯-乙酸乙酯-甲酸-水(1:16:2.5:3, V/V/V/V)的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以5%三氯化铝甲醇溶液,置紫外

光灯(365nm)下检视。结果,供试品色谱中,在与对照药材和对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的黄色荧光斑点;阴性对照无干扰。陈皮的TLC图见图2。

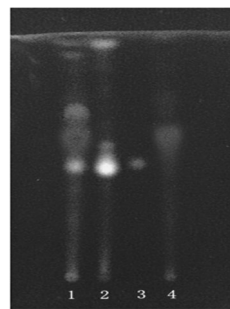


图2 陈皮的TLC图

1.供试品;2.陈皮对照药材;3.橙皮苷对照品;4.阴性对照

Fig 2 TLC of *C. reticulata*

1.test sample; 2.Citri Reticulatae Pericarpium reference substance; 3.hesperidin control; 4.negative control

2.1.3 五味子的TLC鉴别^[1,7-8] 取本品10g,研细,加三氯甲烷30ml,加热回流30min,滤过,滤液蒸干,残渣加三氯甲烷1ml使溶解,作为供试品溶液。另取缺五味子的阴性对照样品10g和五味子对照药材1g,同法制成阴性对照溶液和五味子对照药材溶液。另取五味子醇甲对照品,加三氯甲烷制成每1ml含1mg的溶液,作为对照品溶液。吸取上述4种溶液各2 μ l,分别点于同一硅胶GF₂₅₄薄层板上,以石油醚(30~60℃)-乙酸乙酯-丙酮-甲酸(15:5:2.2:1, V/V/V/V)的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(254nm)下检视。结果,供试品色谱中,在与对照药材和对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的黑色斑点;阴性对照无干扰。五味子的TLC图见图3。

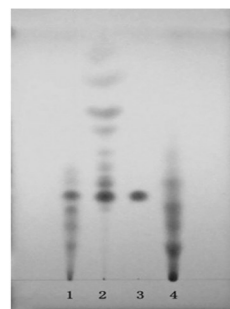


图3 五味子的TLC图

1.供试品;2.五味子对照药材;3.五味子醇甲对照品;4.阴性对照

Fig 3 TLC of *S. chinensis*

1.test sample; 2.Schisandrae Chinensis Fructus reference substance; 3.schisandrins control; 4.negative control

2.2 橙皮苷的含量测定^[1,9-10]

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱:Eclipse XDB-C₁₈(150mm×4.6mm, 5 μ m);流动相:乙腈-0.1%磷酸溶液(17:83, V/V);流速:1.0ml/min;检测波长:283nm;柱温:30℃;进样量:10 μ l。理论板数按橙皮苷峰计算不低于2000。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取干燥至恒质量的橙皮苷对照品1.60mg,置于10ml量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,即得质量浓度为0.16mg/ml的橙皮苷对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取装量差异项下的本品,研细,取约2g,精密称定,置圆底烧瓶中,精密加入甲醇25ml,密塞,称

质量,加热回流提取1h,放冷,再次精密称定,用甲醇补足减失的质量,滤过,取续滤液10ml,浓缩至干,残渣加甲醇使溶解,并转移至10ml量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,经0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2.4 阴性对照溶液的制备 按处方比例制成缺陈皮的阴性样品,按“2.2.3”项下方法制得阴性对照溶液。

2.2.5 专属性试验 精密吸取对照品溶液、阴性对照溶液及供试品溶液各10 μl,按上述色谱条件进样测定。结果,阴性对照溶液在与橙皮苷对照品相应的出峰处未见吸收峰,表明阴性对照溶液无干扰。色谱见图4。

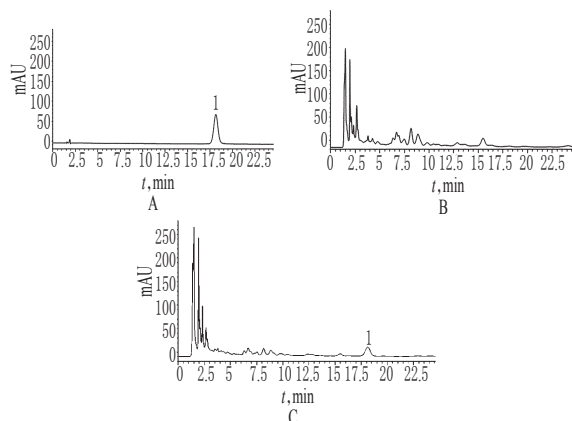


图4 高效液相色谱图

A.橙皮苷对照品;B.阴性对照;C.供试品;1.橙皮苷

Fig 4 HPLC chromatograms

A.hesperidin reference substance;B.negative control;C.test sample;1.hesperidin

2.2.6 线性关系考察 分别精密量取橙皮苷对照品溶液(质量浓度为0.16 mg/ml)1、2、3、5、7、10 ml,置于10 ml量瓶中,加甲醇定容,制成质量浓度分别为0.016、0.032、0.048、0.080、0.112、0.160 mg/ml的对照品溶液。分别精密吸取10 μl,按上述色谱条件进样测定,记录峰面积。以对照品的质量浓度(x, mg/ml)为横坐标,峰面积积分值(y)为纵坐标,进行线性回归,得回归方程: $y=10\ 446x+89.665$ ($r=0.999\ 7, n=6$)。结果表明,橙皮苷的质量浓度在0.016~0.160 mg/ml范围内与其峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.2.7 精密度试验 精密吸取质量浓度为0.16 mg/ml的对照品溶液10 μl,连续进样6次,按上述色谱条件测定,记录峰面积。结果,RSD=1.08% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.2.8 稳定性试验 取同一批样品,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,在室温下放置,分别于0、2、4、6、8、10 h进样,按上述色谱条件测定,记录峰面积。结果,RSD=1.38% ($n=6$),表明供试品溶液在10 h内稳定性良好。

2.2.9 重复性试验 取同一批样品,精密称取6份,分别按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,按上述色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,样品中橙皮苷的平均质量分数为0.057 6%,RSD=1.68% ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.2.10 加样回收率试验 精密称取同一批(批号:130601)已知橙皮苷质量分数(0.058 7%)的样品适量,共9份,每3份为一组,分别加入低、中、高质量分数的对照品,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,按上述色谱条件进样测定,重复3次,计算加样回收率,结果见表1。

2.2.11 样品含量测定 精密称取3批样品(批号:130601、

表1 加样回收率试验结果($n=9$)

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

序号	称样量,g	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	\bar{x} ,%	RSD,%
1	0.160 0	0.094 0	0.040 0	0.134 0	100.00		
2	0.160 8	0.094 5	0.040 0	0.135 0	101.25		
3	0.161 2	0.094 7	0.040 0	0.135 0	100.75		
4	0.161 5	0.094 9	0.080 0	0.175 0	100.13		
5	0.160 3	0.094 2	0.080 0	0.176 0	102.25	100.42	1.79
6	0.161 3	0.094 8	0.080 0	0.173 0	97.75		
7	0.160 5	0.094 3	0.160 0	0.253 0	99.19		
8	0.162 1	0.095 2	0.160 0	0.261 0	103.60		
9	0.161 6	0.094 9	0.160 0	0.253 0	98.81		

130602、1306036)各适量,按“2.2.3”项下方法制成供试品溶液,再按上述色谱条件进样测定,记录峰面积,以外标法计算样品中橙皮苷的质量分数。结果,3批样品中橙皮苷质量分数分别为0.055 2%、0.059 6%、0.058 7%,平均质量分数为0.057 8%。

3 讨论

预试验中,笔者对方中多味药进行了TLC鉴别研究,最终建立了栀子、陈皮和五味子3味药材的TLC鉴别方法。本试验参考了2010年版《中国药典》(一部)和相关文献^[2-6]的方法,并结合实际对展开剂比例作了适当调整。最终,栀子选择参考文献^[2]中的展开剂;陈皮只选择了2010年版《中国药典》(一部)中第二步展开剂,并增大了其中极性较大的乙酸乙酯的比例;五味子在2010年版《中国药典》(一部)的基础上增加了极性稍大的丙酮,最终均能使3味药材良好分离,得到的图谱斑点清晰,R_f值适中,重复性好,且阴性对照无干扰。

本研究对陈皮进行TLC定性鉴别时,曾比较过超声提取和加热回流提取两种方法。结果表明,这两种方法均能得到清晰、分离度好的斑点,由于超声提取较加热回流提取操作更方便,故最终选择超声提取的方法。

在橙皮苷的含量测定中,笔者采用甲醇-1%醋酸溶液^[1,7]作为流动相,结果样品中杂质峰干扰太大;又采用甲醇-0.1%磷酸溶液^[8]和乙腈-1%醋酸溶液^[9]作为流动相,结果橙皮苷峰均太宽;最后采用乙腈-0.1%磷酸溶液^[10]作为流动相,并调整比例为17:83(V/V),可使橙皮苷峰与杂质峰分开,且能保证基线平稳、峰形对称、分离度好、无拖尾。

综上所述,本研究所建标准可用于益气健肝颗粒的质量控制。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:231、176、61、附录34.
- [2] 许保海,臧琛,聂其霞.疏肝降脂颗粒的质量标准研究[J].现代中西医结合杂志,2012,21(1):72.
- [3] 张成,陈青竹,蔡永青,等.复方茵栀颗粒中栀子的鉴别及含量测定[J].中国药房,2010,21(47):4 487.
- [4] 蒋大圆,柳立新.解郁安神颗粒质量标准研究[J].现代中药研究与实践,2011,25(5):75.
- [5] 罗文汇,李养学,孙冬梅,等.陈皮配方颗粒质量标准研究[J].中国药业,2011,20(2):32.
- [6] 汪芸,严家浪,陶移.五味子药材薄层色谱鉴别方法的改进[J].北方药学,2013,10(4):4.
- [7] 杨慈海,杨春丽.高效液相色谱法测定养胃颗粒中橙皮苷的含量[J].北方药学,2013,10(10):5.

大罗伞鲜品根、茎、叶挥发油成分的GC-MS分析

秦庆芳^{1*}, 许蓉蓉¹, 李勇文^{2#}, 杨新平², 李丽², 杨成芳², 谷立勋³(1.柳州食品药品检验所, 广西柳州 545006; 2.桂林医学院药学院, 广西桂林 541004; 3.广西壮族自治区食品药品检验所, 南宁 530021)

中图分类号 R284 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)39-3698-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.39.18

摘要 目的: 研究大罗伞鲜品根、茎、叶中的挥发油成分。方法: 采摘12 h内的大罗伞, 用挥发油测定器提取挥发油, 用气相色谱-质谱联用技术对挥发油成分进行分析, 采用NIST标准谱库结合保留指数解谱法对各成分进行定性分析, 并用面积归一化法计算各成分的质量分数。结果: 从大罗伞根、茎、叶的挥发油中确定出7、12、5个成分, 分别占各自挥发油总量的91.7%、83.6%、85.4%; 其中, 棕榈酸为大罗伞根、茎、叶挥发油的主要成分, 分别占各自挥发油总量的66.0%、60.4%、71.8%。结论: 该方法可快速、准确地鉴别大罗伞鲜品根、茎、叶中的挥发油成分, 可为大罗伞药材的进一步开发利用提供科学依据。

关键词 大罗伞; 根; 茎; 叶; 挥发油; 气相色谱-质谱联用技术; 成分分析

Analysis of Volatile Oil from the Roots, Stems and Leaves of *Psychotria rubra* by GC-MS

QIN Qing-fang¹, XU Rong-rong¹, LI Yong-wen², YANG Xin-ping², LI Li², YANG Cheng-fang², GU Li-qing³ (1. Liuzhou Institute for Food and Drug Control, Guangxi Liuzhou 545006, China; 2. College of Pharmacy, Guilin Medical University, Guangxi Guilin 541004, China; 3. Guangxi Institute for Food and Drug Control, Nanning 530021, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To analyze the chemical constituents of volatile oil from the roots, stems and leaves of *Psychotria rubra*. METHODS: Fresh samples were picked within 12 h; volatile oil was extracted by volatile oil determination apparatus and analyzed by GC-MS. The constituents of volatile oil were analyzed qualitatively by using NIST standard spectral library and retention index. The relative contents of constituents were calculated with area normalization method. RESULTS: 7, 12 and 5 chemical constituents were identified in volatile oil from the roots, stems and leaves of *P. rubra*, accounting for 91.7%, 83.6% and 85.4% in the total. Main constituent of volatile oil from the roots, stems and leaves of *P. rubra* was hexadecanoic acid, accounting for 66.0%, 60.4% and 71.8%. CONCLUSIONS: The analysis of chemical constituents in volatile oil from fresh *P. rubra* reflect the real situation in greatest extent, and provide scientific basis for the further development and utilization of *P. rubra*.

KEYWORDS *Psychotria rubra*; Root; Stem; Leaf; Volatile oil; GC-MS; Retention index

大罗伞即茜草科植物九节 *Psychotria rubra* (Lour.) Poir.^[1], 以根、叶入药, 别名九节木、山大刀等, 在我国广西境内有较广泛的分布, 为壮族民间用药, 具有清热解暑、消肿拔毒的功效, 临床可用于治疗白喉、扁桃体炎、咽喉炎、痢疾、肠伤寒、胃痛和风湿骨痛; 其叶可外用于治疗跌打肿痛、外伤出血、毒蛇咬伤、疮疡肿毒、下肢溃疡。目前, 关于大罗伞根、茎、叶挥发油成分的研究尚未见报道。为此, 笔者尝试采用气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术对其挥发油进行分析, 以期为大罗伞药材的进一步开发利用提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

7890A-5975C型GC-MS仪(美国安捷伦公司); 全玻璃挥发油测定器(天津玻璃仪器厂); AE240型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司); 粉碎机(浙江省温岭市大腾机械有限公司); DHG-9123A型电热鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司)。

1.2 药材

大罗伞于2013年10月采摘自广西桂平太平山动植物保护区, 经桂林食品药品检验所饶伟文主任中药师鉴定为茜草科植物九节 *P. rubra* (Lour.) Poir.。

1.3 试剂

正构烷烃 C₈~C₁₀ (质量浓度: 500 μg/ml, 美国 AccuSan-

[8] 车晓彦, 邓晓鸿, 周娟, 等. 槐角丸的HPLC特征图谱研究及柚皮苷和新橙皮苷的测定[J]. 华西药学杂志, 2013,

* 副主任药师。研究方向: 食品药品检测及质量标准。电话: 0772-2608059。E-mail: 465764508@qq.com

通信作者: 教授, 博士。研究方向: 抗乙型肝炎类药物、抗纤维化药物。电话: 0773-2295284。E-mail: liyongwen99@163.com

29(6):645.

[9] 祁红, 刘传统. 胆炎颗粒质量标准的建立[J]. 中国药师, 2013, 16(3):462.

[10] 刘晓丽, 周清. 高效液相色谱法测定香砂养胃丸中橙皮苷的含量[J]. 中国当代医药, 2013, 20(4):67.

(收稿日期: 2014-03-21 修回日期: 2014-08-04)