

淫桂通便颗粒的质量标准研究[△]

王 蕾^{1*}, 谈瑄忠^{2#}, 毛春芹¹, 陆兔林¹, 张 星¹, 顾娟娟¹(1.南京中医药大学药学院, 南京 210046; 2.南京市中医院, 南京 210001)

中图分类号 R283.627; R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)15-1400-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.15.20

摘要 目的:建立淫桂通便颗粒的质量标准。方法:采用薄层色谱法对方中淫羊藿、肉桂、葛根和厚朴进行定性鉴别,用高效液相色谱法对淫羊藿苷进行含量测定;色谱柱为 Kromasil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-水(26:74, V/V),流速为 1.0 ml/min,检测波长为 270 nm,柱温为 30 ℃。结果:薄层鉴别斑点清晰、分离较好,阴性对照无干扰;淫羊藿苷的质量浓度在 4.072~81.440 μg/ml 范围内与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 94.97%,RSD=1.21%($n=9$)。结论:所用定性与定量方法简便、专属性强,结果准确、可靠;所建标准可用于淫桂通便颗粒的质量控制。

关键词 淫桂通便颗粒;质量标准;淫羊藿苷;薄层色谱法;高效液相色谱法

Study on Quality Standard of Yingui Tongbian Granules

WANG Lei¹, TAN Xuan-zhong², MAO Chun-qin¹, LU Tu-lin¹, ZHANG Xing¹, GU Juan-juan¹(1.Pharmaceutical College of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210046, China; 2. Nanjing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210001, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard of Yingui tongbian granules. METHODS: TLC was used for the qualitative identification of Epimedii Folium, *Cinnamomum cassia*, *Pueraria lobata* and Magnoliae Officinalis Cortex. HPLC was used to determine the content of icraiin. The determination was performed on Kromasil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm) column with mobile phase consisted of acetonitrile-water (26:74, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 270 nm, and the column temperature was 30 ℃. RESULTS: TLC spots were clear and well-separated without negative interference. The linear range of icraiin was 4.072-81.440 μg/ml($r=0.999\ 9$)with an average recovery of 94.97% (RSD=1.21%, $n=9$). CONCLUSION: The method is simple, specific, accurate and reliable. It can be used for the quality control of Yingui tongbian granules.

KEY WORDS Yingui tongbian granules; Quality standards; Icraiin; TLC; HPLC

淫桂通便颗粒由淫羊藿、肉桂、葛根、厚朴和茯苓5味中药组成,具有温补脾肾、润肠通便之功效。本方属医院经验方,已在临床使用多年,对脾肾阳虚型便秘具有治疗作用。为了控制该制剂的质量,笔者采用薄层色谱(TLC)法对方中淫羊藿、肉桂、葛根和厚朴进行定性鉴别,并用高效液相色谱(HPLC)法对君药淫羊藿中淫羊藿苷进行含量测定,建立了该制剂的质量标准。

1 材料

1.1 仪器

1200型HPLC仪,含二极管阵列检测器(DAD)等(美国Agilent公司);FA1104型万分之一电子分析天平(上海天平仪器厂);硅胶G薄层板(青岛海洋化工厂);水浴锅(巩义市英峪予华仪器厂);WD-9403C型紫外分析仪(北京市六一仪器厂);KQ-500E型医用超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率:500 W,频率:40 kHz)。

1.2 药品与试剂

△ 基金项目:“十二五”南京市医学科技发展重大项目(No.4)

* 硕士研究生。研究方向:中药质量标准及新药研发。E-mail: wanglei1132@126.com

通信作者:副教授,硕士研究生导师。研究方向:中药复方制剂质量标准与新药开发、药物经济学。电话:025-52308543。E-mail: txz282@sohu.com

淫桂通便颗粒(批号:120215、120216、120217)及各阴性样品均由南京市中医院自制;淫羊藿苷对照品,肉桂、厚朴、葛根对照药材(中国食品药品检定研究院,批号分别为110736-200427、121363-200401、121285-200902、121551-200902);水为重蒸水,乙腈、甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯;淫羊藿对照药材(上海士锋生物科技有限公司,纯度>98%)。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别

2.1.1 淫羊藿的TLC鉴别 取本品1g,加乙醚50 ml,超声处理30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水10 ml溶解,用氯仿萃取3次,每次10 ml,弃去氯仿层,残渣用水饱和的正丁醇萃取3次,每次20 ml,合并正丁醇层,水浴挥干,残渣用1 ml甲醇溶解,作为供试品溶液^[1]。另取淫羊藿对照药材1g,同法制成对照药材溶液。再取缺淫羊藿的阴性样品1g,同法制成阴性对照溶液。吸取上述3种溶液各10 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以氯仿-丁酮-甲醇-水(10:5:5.5:1, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以2%香草醛硫酸-乙醇(4:1, V/V)混合溶液,于105 ℃加热至斑点显色清晰,日光下检视。结果,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点;阴性对照无干扰。淫羊藿的TLC见图1。

2.1.2 肉桂的TLC鉴别 取本品5 g,加乙醇10 ml,超声处理20 min,滤过,取滤液作为供试品溶液。另取肉桂对照药材1 g,同法制成对照药材溶液。再取缺肉桂的阴性样品0.5 g,同法制成阴性对照溶液。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,以石油醚-乙酸乙酯(17:3, V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以二硝基苯胍乙醇试液^[2],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,显相同颜色的斑点;阴性对照无干扰。肉桂的TLC见图2。

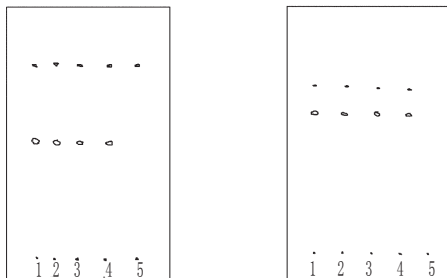


图1 淫羊藿的TLC 1.淫羊藿对照药材;2~4.供试品;5.阴性对照
Fig 1 TLC of Epimedium Folium 1.Epimedium Folium reference substance; 2-4. test samples; 5. negative control

图2 肉桂的TLC 1.肉桂对照药材;2~4.供试品;5.阴性对照
Fig 2 TLC of Cinnamomi Cortex 1.Cinnamomi Cortex reference substance; 2-4. test samples; 5. negative control

2.1.3 葛根的TLC鉴别 取本品2 g,加甲醇20 ml,放置2 h,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇1 ml溶解,作为供试品溶液。另取葛根对照药材1 g,同法制成对照药材溶液。再取缺葛根的阴性样品2 g,同法制成阴性对照溶液。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,以氯仿-甲醇-水(7:2.5:0.25, V/V/V)为展开剂^[3],展开,取出,晾干,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,显相同颜色的荧光斑点;阴性对照无干扰。葛根的TLC见图3。

2.1.4 厚朴的TLC鉴别 取本品0.5 g,研细,加甲醇5 ml,超声处理30 min,滤过,取滤液作为供试品溶液。另取厚朴对照药材1 g,同法制成对照药材溶液。再取缺厚朴的阴性样品0.5 g,同法制成阴性对照溶液。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,以氯仿-乙酸乙酯-甲酸(10:1:0.2, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以1%香草醛硫酸溶液,于105 $^{\circ}$ C加热至斑点显色清晰,日光下检视。结果,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点;阴性对照无干扰。厚朴的TLC见图4。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱:Kromasil C₁₈ (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m);流动相:乙腈-水(26:74, V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:270 nm;柱温:30 $^{\circ}$ C;进样量:10 μ l。理论板数按淫羊藿苷峰计算应不低于3 000,分离度>1.5。在此条件下,淫羊藿苷色谱峰与其他组分峰可达基线分离,供试品与淫羊藿苷对照品在相同时间点出现同一色谱峰,阴性对照无干扰。色谱见图5。

2.2.2 对照品贮备液的制备 精密称取淫羊藿苷对照品适量,加甲醇溶解并制备成质量浓度为0.407 2 mg/ml的溶液,摇

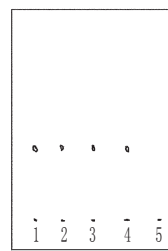


图3 葛根的TLC 1.葛根对照药材;2~4.供试品;5.阴性对照
Fig 3 TLC of Pueraria lobata 1.Puerariae Lobatae Radix reference substance; 2-4. test samples; 5. negative control

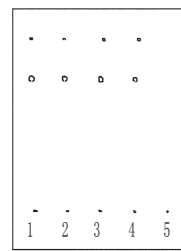


图4 厚朴的TLC 1.厚朴对照药材;2~4.供试品;5.阴性对照
Fig 4 TLC of Magnoliae Officinalis Cortex 1. Magnoliae Officinalis Cortex reference substance; 2-4. test samples; 5. negative control

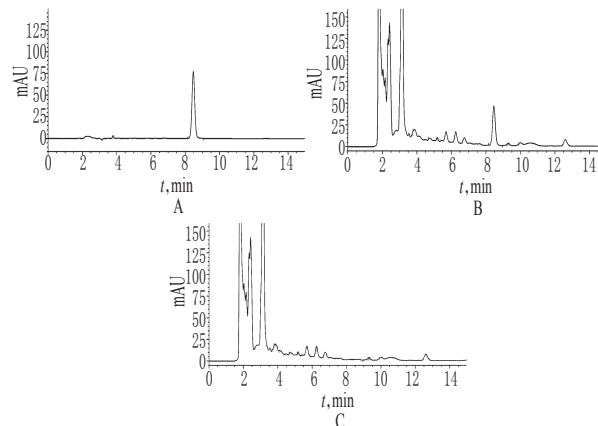


图5 高效液相色谱图 A.淫羊藿苷对照品;B.供试品;C.阴性对照
Fig 5 HPLC chromatograms A. icariin control; B. test sample; C. negative control

匀,作为对照品贮备液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入稀乙醇25 ml,密塞,称定质量,超声处理30 min,再称定质量,用稀乙醇补足失质量,摇匀,滤过,取续滤液,再用微孔滤膜(0.45 μ m)滤过,取续滤液,即得。

2.2.4 标准曲线的制备 精密量取质量浓度为0.407 2 mg/ml的淫羊藿苷对照品溶液适量,加甲醇依次稀释成质量浓度为4.072、8.144、20.360、40.720、81.440 μ g/ml的系列溶液,各进样10 μ l,按上述色谱条件测定。以对照品质量浓度(x)为横坐标,峰面积积分值(y)为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程为 $y=73.401x-6.4753$ ($r=0.9999$, $n=5$)。结果表明,淫羊藿苷的质量浓度在4.072~81.440 μ g/ml范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.2.5 精密度试验 取淫羊藿苷对照品溶液适量,按上述色谱条件重复进样6次,测定峰面积。结果,RSD=2.24%($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液适量,于室温下放置0、2、4、6、8、10 h时按上述色谱条件进样测定。结果,RSD=2.69%($n=6$),表明供试品溶液在10 h内稳定。

2.2.7 重复性试验 精密称取批号为120215的样品0.5 g,共

6份,分别按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,各精密吸取10 μl,按上述色谱条件进样测定。结果,每1g样品平均含淫羊藿苷1.4993 mg, RSD=1.43% (n=6),表明本方法重复性良好。

2.2.8 加样回收率试验 精密称取批号为120215的样品0.25 g,共9份,分别置于具塞锥形瓶中,每3份为一组,分别加入质量浓度为0.4072 mg/ml的淫羊藿苷对照品溶液0.8、1.0、1.2 ml,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,照上述色谱条件进样测定,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 tests(n=9)

编号	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	\bar{x} ,%	RSD,%
1	0.3766	0.3258	0.6384	94.30		
2	0.3735	0.3258	0.6317	93.06		
3	0.3763	0.3258	0.6406	95.19		
4	0.3753	0.4072	0.7107	95.96		
5	0.3786	0.4072	0.7112	95.19	94.97	1.21
6	0.3745	0.4072	0.7121	96.54		
7	0.3771	0.4886	0.7803	95.74		
8	0.3780	0.4886	0.7714	93.47		
9	0.3735	0.4886	0.7746	95.23		

2.2.9 样品含量测定 取3批样品各适量,每批平行取样3份,分别按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,照上述色谱条件进样测定,以外标两点法计算样品中淫羊藿苷的含量,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)

样品批号	淫羊藿苷含量,mg/g	\bar{x} ,mg/g	RSD,%
120215	1.5289		
	1.4889	1.5071	1.34
	1.5034		
120216	1.5211		
	1.4845	1.5066	1.29
	1.5142		
120217	1.4966		
	1.5121	1.5023	0.57
	1.4982		

3 讨论

3.1 定性鉴别方法

淫桂通便颗粒是一种中药复方制剂,成分较为复杂,影响TLC鉴别的干扰因素较多。笔者通过参考文献和预试验,选取方中淫羊藿、肉桂、葛根和厚朴4味药进行TLC鉴别,得到了理想的结果。在对淫羊藿进行TLC鉴别时,供试品溶液的制

备方法一开始参考文献^[1]采用水饱和的正丁醇萃取,但斑点分不清楚,考虑到是受脂溶性色素的影响,故用氯仿去除色素,得到了满意结果。

本试验原本也研究了制剂中茯苓的TLC鉴别法,但发现气温较高时能够得到特征斑点,气温较低时采用相同的展开系统却得不到斑点,即使换成其他展开系统、加大点样量,也得不到特征斑点,推测茯苓中待检测成分与气温、湿度有很大关系,故决定等到夏天再对其进行TLC鉴别研究,并探讨季节变化对TLC鉴别的影响。

3.2 含量测定方法

在对淫羊藿中的淫羊藿苷进行含量测定时,笔者比较了依利特Hypersil ODS2柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)和Kromasil C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)的分离效果,分别采用同一色谱条件进行分离。结果表明,采用Kromasil C₁₈柱时,各色谱峰之间的分离度、对称性好,分离效果为佳。同时,还考察了不同流动相对峰形的影响,发现当流动相用甲醇时^[5],色谱峰严重拖尾,分离度差;流动相用乙腈-水(30:70, V/V)时^[6-7],色谱峰峰形对称,但保留时间过短,分离度不好;而采用乙腈-水(26:74, V/V)为流动相时,色谱峰峰形对称,保留时间适中,分离效果最佳。

综上,所用定性与定量方法简便、专属性强,结果准确、可靠;所建标准可用于淫桂通便颗粒的质量控制。

参考文献

- [1] 熊龙花,黄慧成.复方葆春袋泡茶质量标准研究[J].中国现代应用药学,1999,16(4):44.
- [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,2010:127.
- [3] 申桂霞.玉液消渴冲剂中黄芪葛根的薄层鉴别[J].中医药导报,2007,13(7):92.
- [4] 罗毅,杨俊,马俊玲.淫黄颗粒质量控制方法研究[J].中国药房,2007,18(3):201.
- [5] 夏爱军,黄河舟,高岗.HPLC法同时测定淫羊藿药材中的5个黄酮类成分[J].药物分析杂志,2009,30(14):1129.
- [6] 陈友爱,林晓.高效液相色谱法测定解心痛片中淫羊藿苷的含量[J].海峡药学,2007,19(10):38.
- [7] 叶立新,陈刚梅,张树平.乳癖宁贴膏质量控制方法研究[J].中国药房,2009,20(10):779.

(收稿日期:2012-04-01 修回日期:2012-05-18)

国务院机构改革和职能转变方案:组建国家卫生和计划生育委员会

据新华网2013年3月15日报道,根据党的“十八大”和十八届二中全会精神,为更好地坚持计划生育的基本国策,加强医疗卫生工作,深化医药卫生体制改革,优化配置医疗卫生和计划生育服务资源,提高出生人口素质和人民健康水平,将卫生部的职责、国家人口和计划生育委员会的计划生育管理和服务职责整合,组建国家卫生和计划生育委员会。主要职责是:统筹规划医疗卫生和计划生育服务资源配置,组织制定国

家基本药物制度,拟订计划生育政策,监督管理公共卫生和医疗服务,负责计划生育管理和服务工作等。将国家人口和计划生育委员会的研究拟订人口发展战略、规划及人口政策职责划入国家发展和改革委员会。国家中医药管理局由国家卫生和计划生育委员会管理。不再保留卫生部、国家人口和计划生育委员会。

(新华网)