

消核灵胶囊的质量标准

陈洪喜¹, 杨智慧²

(1. 连云港市第一人民医院, 江苏连云港 222002;
2. 连云港市药品检验所, 江苏连云港 222006)

[摘要] 目的:建立消核灵胶囊的质量标准。方法:采用 TLC 对穿山甲进行定性鉴别;采用 HPLC 测定延胡索乙素和迷迭香酸的含量。Phenomenex C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相 A 为 0.1% 磷酸溶液(以三乙胺调节 pH 至 6.0)-甲醇(45:55),流动相 B 为 0.1% 磷酸溶液-甲醇(55:45),梯度洗脱;流速 0.8 mL·min⁻¹,柱温 28 ℃,检测波长 282 nm(0~25 min),330 nm(25.01~60 min)。结果:薄层色谱图斑点清晰,阴性对照无干扰;延胡索乙素和迷迭香酸进样量分别在 0.015 0~0.751 0, 0.060 3~3.016 μg 与峰面积呈良好线性关系($r=0.999\ 8$),平均加样回收率分别为 98.86% (RSD 0.9%) 和 99.96% (RSD 1.0%)。结论:该方法简便、可靠、准确,可用于该制剂的质量控制。

[关键词] 消核灵胶囊; 延胡索乙素; 迷迭香酸; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)20-0079-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015200079

Quality Standard of Xiaohelin Capules CHEN Hong-xi¹, YANG Zhi-hui² (1. The First People's Hospital of Lianyungang, Jiangsu Province, Lianyungang 222002, China; 2. Lianyungang Institute for Drug Control, Lianyungang 222006, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the quality standard for Xiaohelin capsules. **Method:** Pangolin in Xiaohelin capsules was indentified by TLC. The content of tetrahydropalmatine and rosmarinic acid were determined by HPLC. Phenomenex C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm) column was adopted and eluted with the mobile phase A of 0.1% phosphoric acid (adjusted pH to 6.0 with triethylamine) -methanol (45:55) and the mobile phase B of 0.1% phosphoric acid-methanol (55:45) in a gradient mode at a flow rate of 0.8 mL·min⁻¹. The column temperature was set at 28 ℃. The detection wavelength was 282 nm (0-25 min, for tetrahydropalmatine) and 330nm (25.01-60 min, for rosmarinic acid). **Result:** The developed TLC spots were fairly clear without interference. Tetrahydropalmatine and rosmarinic acid showed a good linear relationship in the ranges between 0.015 0-0.751 0, 0.060 3-3.016 μg ($r=0.999\ 8$), the average recovery rates were 98.86% (RSD 0.9%) and 99.96% (RSD 1.0%) respectively. **Conclusion:** The method is simple, reliable and accurate, and can be used in the quality control of Xiaohelin capsules.

[Key words] Xiaohelin capsules; tetrahydropalmatine; rosmarinic acid; TLC; HPLC

消核灵胶囊(苏药制字 Z04000076)是连云港市第一人民医院研制的医院制剂,由延胡索、夏枯草、穿山甲、全蝎、斑蝥、蜈蚣 6 味中药组成,具有解郁散结、调经理气之功效^[1],用于乳癖结块(乳腺小叶增生)的治疗。为了快速全面控制药品质量,确保制剂疗效,本文采用 TLC 法对方中穿山甲进行定性鉴别,采用波长切换技术同时测定延胡索乙素和迷迭香酸的含量^[2-6]。

1 材料

1.1 仪器 1100 系列高效液相色谱仪(配置四元

梯度泵、在线脱气机、VWD 检测器,美国 Agilent), BP211D 型电子天平(德国 Sartorius), SK250HP 型超声仪(上海利导超声仪器有限公司)。

1.2 试药 穿山甲对照药材(批号 121027-201004),延胡索乙素(批号 110726-201213)、迷迭香酸(批号 111871-201203)对照品均由中国食品药品检定研究院提供;消核灵胶囊(医院制剂,0.3 g/粒,批号 20130304,20130906,20131025),水为高纯水,乙腈(色谱纯,批号 130606),甲醇(色谱纯,批号 130201)均为 Fisher Scientific 提供;其他试剂均为分

[收稿日期] 20140917(003)

[第一作者] 陈洪喜,副主任药师,从事医院药学工作, Tel:0518-85605270, E-mail:779484024@qq.com

析纯。

2 方法与结果

2.1 穿山甲的鉴别 称取本品粉末 5 g,加三氯甲烷 60 mL,超声(59 Hz,200 W)45 min,滤过,滤液蒸干,残渣加三氯甲烷 1 mL 使溶解作为供试品溶液。取穿山甲对照药材 1 g,同法制成对照药材溶液。取缺穿山甲的阴性样品 5 g,同法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法试验,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,以甲苯-丙酮(20:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以醋酐-硫酸(9:1)混合溶液,在 80 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰,置紫外光灯(365 nm)下检视。

供试品色谱中在对照品色谱相应的位置上显相同颜色的荧光斑点,阴性对照溶液在相应的位置上无斑点,说明阴性无干扰。

2.2 延胡索乙素和迷迭香酸含量测定

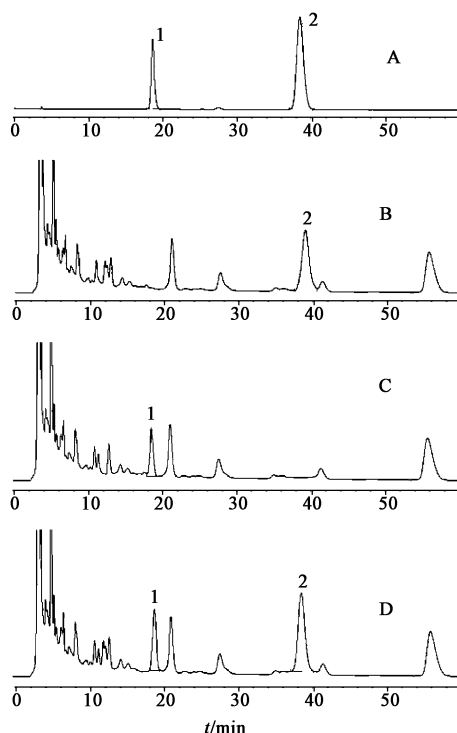
2.2.1 色谱条件与系统适用性试验 Phenomenex C_{18} 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm,5 μ m);以 0.1% 磷酸溶液(三乙胺调 pH 至 6.0)-甲醇(45:55)为流动相 A,0.1% 磷酸溶液-甲醇(55:45)为流动相 B,梯度洗脱(0~22 min,90%~80% A;22~27 min,80%~50% A;27~32 min,50%~20% A;32~60 min,20%~5% A);流速 0.8 mL \cdot min $^{-1}$;检测波长 282 nm(0~25 min),330 nm(25.01~60 min);柱温 28 $^{\circ}$ C,进样量 10 μ L。在此色谱条件下,色谱基线平稳,延胡索乙素峰、迷迭香酸峰与相邻色谱峰都能达到基线分离,阴性样品无干扰,理论塔板数按迷迭香酸峰计算不低于 5 000,见图 1。

2.2.2 对照品溶液 精密称取延胡索乙素对照品 15.02 mg,迷迭香酸对照品 60.32 mg,分别置于 100 mL 量瓶中,加 70% 甲醇溶液溶解并稀释至刻度,摇匀,制成质量浓度分别为延胡索乙素 150.2 mg \cdot L $^{-1}$ 、迷迭香酸 603.2 mg \cdot L $^{-1}$ 的对照品储备液。分别精密吸上述储备液各 5 mL 至同一 50 mL 量瓶中,加 70% 甲醇溶液至刻度,摇匀,即得混合对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液 取本品 20 粒(批号 20130906)的内容物,精密称定,研细,取约 1.5 g,精密称定,精密加入 70% 甲醇溶液 15 mL,称定质量,超声提取 45 min,放冷,再称定质量,用 70% 甲醇溶液补足减失质量,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.2.4 阴性样品溶液 按处方工艺分别制备不含延胡索和夏枯草药材的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成阴性样品溶液。

2.2.5 线性关系的考察 取延胡索乙素、迷迭香酸



A. 对照品;B. 延胡索阴性;C. 夏枯草阴性;D. 供试品;1. 延胡索乙素;2. 迷迭香酸

图 1 消核灵胶囊 HPLC

Fig. 1 HPLC of Xiaohelin capsules

对照品储备液各 5,2,1,0.5,0.2,0.1 mL,置同一 10 mL 量瓶中,用 70% 甲醇溶液稀释至刻度,制成混合对照品溶液,按 2.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积,以峰面积积分为纵坐标,对照品溶液浓度(mg \cdot L $^{-1}$)为横坐标,进行线性回归,延胡索乙素回归方程为 $Y = 1.328 \times 10^3 X - 2.715$ ($r = 0.9998$);迷迭香酸回归方程为 $Y = 2.169 \times 10^3 X + 1.591$ ($r = 0.9998$)。结果表明,延胡索乙素进样量在 0.015 0~0.751 0 μ g 峰面积与进样量呈良好线性关系;迷迭香酸进样量在 0.060 3~3.016 μ g 与峰面积呈良好线性关系。

2.2.6 精密度试验 精密量取延胡索乙素与迷迭香酸混合对照品溶液重复进样 6 次,结果延胡索乙素、迷迭香酸峰面积的 RSD 分别为 0.8%,1.3%。表明仪器精密度良好。

2.2.7 稳定性试验 取样品(批号 20130304)新配的供试品溶液,室温放置,分别于 0,1,3,5,8,12 h 进样测定,结果延胡索乙素、迷迭香酸峰面积的 RSD 分别为 1.4%,1.0%,表明供试品溶液在 12 h 稳定。

2.2.8 重复性试验 精密称取同一批号的样品(批号 20130304)按照 2.2.2 项下制备供试品溶液 6 份并测定含量。结果延胡索乙素和迷迭香酸的平均质量

分数分别为 51.24 μg/粒 (RSD 1.1%) 和 203.2 μg/粒 (RSD 1.1%), 表明本法重复性很好。

2.2.9 加样回收试验 精密称取已测知含量的消核灵胶囊(批号 20130906)内容物 1.5 g, 精密称定 9 份, 称样量分别为 1.500 2, 1.501 0, 1.502 1, 1.498 6, 1.501 1, 1.500 5, 1.499 6, 1.502 5, 1.500 4 g, 每 3 份一组, 分别精密加入 2.2.2 项下混合对照品溶液适量, 按供试品溶液的制备方法制备, 并按上述色谱条件进行测定, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 消核灵胶囊中两种成分的加样回收试验

Table 1 Recovery test of Xiaohelin capsules

成分	样品中量 /μg	加入量 /μg	测得量 /μg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
延胡索乙素	260.2	150.2	409.1	99.13	98.86	0.9
	260.3	150.2	410.3	99.87		
	260.5	150.2	408.9	98.80		
	259.9	225.3	481.2	98.22		
	260.3	225.3	484.3	99.42		
	260.2	225.3	479	97.11		
	260.1	300.4	558.4	99.30		
	260.6	300.4	560.8	99.93		
	260.2	300.4	554.6	98.00		
	迷迭香酸	1 019	603.2	1 621	99.80	99.96
1 020		603.2	1 625	100.30		
1 020		603.2	1 614	98.47		
1 018		904.8	1 917	99.36		
1 020		904.8	1 930	100.57		
1 019		904.8	1 913	98.81		
1 019		1 206	2 231	100.50		
1 021		1 206	2 251	101.99		
1 019		1 206	2 223	99.83		

2.2.10 样品含量测定 依法对 3 批样品中的延胡索乙素和迷迭香酸含量进行了测定, 结果见表 2。

表 2 消核灵胶囊样品测定 μg/片

Table 2 Determination results of Xiaohelin capsules μg/pill

样品批号	延胡索乙素	迷迭香酸
20130304	51.24	203.2
20130906	52.03	203.8
20131025	51.98	203.6

2.2.11 耐用性试验 色谱柱的影响 取供试品溶液, 在其他色谱条件不变的情况下, 分别采用 Phenomenex C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), Agilent

SB C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), Waters C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱进行试验。结果测得不同色谱柱的供试品(批号 20130304)中延胡索乙素的质量分数分别为 51.24, 51.09, 50.02 μg/粒; RSD 1.2% (n = 6), 迷迭香酸的含量分别为 203.2, 202.1, 203.5 μg/粒; RSD 1.0% (n = 6), 表明 3 种不同品牌的色谱柱对延胡索乙素和迷迭香酸的含量测定影响较小。

3 讨论

3.1 提取条件的选择 考察了加热回流法、冷浸提取法和超声提取法 3 种方法; 以 30% 甲醇溶液、50% 甲醇溶液、70% 甲醇溶液为提取溶剂; 分别提取 30, 45, 60 min, 结果表明以 70% 甲醇溶液超声提取 45 min 对延胡索乙素和迷迭香酸的提取效率最高^[7]。

3.2 柱温的影响 取同一供试品溶液, 分别在 25, 28, 30 °C 下试验, 结果均能达到基线分离, 但 25 °C 时迷迭香酸的出峰时间过长, 30 °C 时延胡索乙素和相邻峰的分度不理想, 故将色谱柱温度定为 28 °C。

3.3 波长的选择 根据延胡索乙素和迷迭香酸紫外吸收扫描结果, 为进一步提高测定灵敏度, 本试验采用了检测波长切换技术, 在延胡索乙素和迷迭香酸的最大吸收波长处进行检测, 即 0 ~ 25 min, 282 nm; 25.01 ~ 60 min, 330 nm, 进样量 10 μL。

[参考文献]

[1] 李永滨, 尹可华, 戴翔铃. HPLC 法测定消核灵胶囊中熊果酸的含量[J]. 重庆医学, 2002, 31(11): 1145.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 263, 525-527.

[3] 花汝凤, 姚江雄, 黎志坚, 等. HPLC 同时测定夏桑菊颗粒中迷迭香酸与异迷迭香酸苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(24): 75-77.

[4] 徐婷, 曹惠明, 金昔陆, 等. 延胡索乙素临床应用的研究进展[J]. 上海中医药大学学报, 2000, 14(4): 60-63.

[5] 王晓玲, 郑振, 洪战英, 等. 中药延胡索的化学成分与质量控制研究进展[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(1): 227-229.

[6] 王发, 张秉华, 郭欢迎. HPLC 法测定复方甘草麻黄碱片中盐酸麻黄碱和延胡索乙素的含量[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(3): 541-543.

[7] 陈玲玲, 朱德全, 蔡月娥, 等. 正交试验优化溪黄草中咖啡酸和迷迭香酸的超声提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(12): 12-14.

[责任编辑 顾雪竹]