

## 疏经防痛胶囊的定性定量分析

刘莉, 袁强华\*, 宋英

(成都中医药大学附属医院, 成都 610072)

**[摘要]** **目的:**研究疏经防痛胶囊的质量控制方法。**方法:**采用TLC对疏经防痛胶囊中丹参、当归、乳香及没药进行定性鉴别;采用HPLC方法,以乙腈-0.1%磷酸溶液为流动相,进行梯度洗脱,在检测波长230 nm处同时测定芍药苷、柚皮苷、新橙皮苷及丹酚酸B共4种成分含量。**结果:**TLC鉴别分离度好,专属性强。芍药苷在25.30~506.00 mg·L<sup>-1</sup>,柚皮苷在12.68~253.60 mg·L<sup>-1</sup>,新橙皮苷在15.24~304.80 mg·L<sup>-1</sup>,丹酚酸B在27.72~554.30 mg·L<sup>-1</sup>分别具有良好的线性关系,相关系数分别为1.000 0,0.999 9,0.999 9,0.999 9,平均加样回收率分别为100.69% (RSD 0.9%),100.08% (RSD 1.6%),100.85% (RSD 1.2%)和100.42% (RSD 2.0%)。**结论:**该质量控制方法简便、准确、重复性好,可有效的控制疏经防痛胶囊质量。

**[关键词]** 疏经防痛胶囊;柚皮苷;新橙皮苷;丹酚酸B;质量控制

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)12-0084-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016120084

## Qualitative and Quantitative Analysis of Shujing Fangtong Capsule

LIU Li, YUAN Qiang-hua\*, SONG Ying

(The Hospital Affiliated to Chengdu University of Traditional Medicine, Chengdu 610072, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish the method for quality control of Shujing Fangtong capsule. **Method:** TLC method was used to qualitatively identify *Salvia Miltiorrhiza*, *Angelica Sinensis Radix*, *Olibanum* and *Myrrha* in Shujing Fangtong capsule; the contents of paeoniflorin, naringin, neohesperidin and gsalvianolic acid B were simultaneously determined by HPLC, with acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution as the mobile phase for gradient elution at a detection wavelength of 230 nm. **Result:** The TLC identification method was distinct and highly specific. Paeoniflorin, naringin, neohesperidin and gsalvianolic acid B showed good linear relationship in ranges of 25.30-506.00 mg·L<sup>-1</sup> ( $r=1.000\ 0$ ), 12.68-253.60 mg·L<sup>-1</sup> ( $r=0.999\ 9$ ), 15.24-304.80 mg·L<sup>-1</sup> ( $r=0.999\ 9$ ) and 27.72-554.30 mg·L<sup>-1</sup> ( $r=0.999\ 9$ ) respectively. The average recovery rate of samples was 100.69% (RSD 0.9%), 100.08% (RSD 1.6%), 100.85% (RSD 1.2%) and 100.85% (RSD 2.0%) respectively. **Conclusion:** This quality control method is simple, accurate and reproducible, which can be used to effectively control the quality of Shujing Fangtong capsule.

**[Key words]** Shujing Fangtong capsule; naringin; neohesperidin; salvianolic acid B; quality control

“疏经防痛方”源于成都中医药大学附属医院杨家林主任医师经验方“四逆散合活络效灵丹”加减化裁而成<sup>[1]</sup>,由白芍(酒)、枳壳、丹参、当归等8味中药组成,具有养血益肝、行气助用、祛瘀止痛的功效,主治肝郁血瘀型痛经导致的下腹疼痛、腰酸、

坠胀、恶心、呕吐等<sup>[2]</sup>。长期的临床应用表明,该方疗效显著<sup>[3]</sup>。为便于临床使用,本课题拟将其转化为院内制剂,在前期的工作中已完成了提取、浓缩纯化、成型工艺,拟定制备为胶囊剂;为控制本品内在质量,确保临床疗效;本试验以拟定工艺制备的3批

**[收稿日期]** 20150624(009)

**[基金项目]** 四川省科技厅科技支撑项目(2014SZ0140)

**[第一作者]** 刘莉,药师,从事中药制剂与药理研究,E-mail:565833646@qq.com

**[通讯作者]** \*袁强华,药师,硕士,从事中药新药与新剂型研究,E-mail:369271467@qq.com

中试样品为研究对象,结合前期工艺研究参数,采用 TLC 对方中丹参、当归、乳香(醋)及没药(醋)4 味药材进行定性鉴别;采用 HPLC 同时对芍药苷、柚皮苷、新橙皮苷和丹酚酸 B 共 4 种成分进行定量分析,为疏经防痛胶囊质量标准的建立提供技术支持。

## 1 材料

1260 型高效液相色谱仪(DAD 检测器,Open LAB 工作站,美国安捷伦公司),BP211D 型 1/10 万电子分析天平(德国 Satorius 公司)。对照品芍药苷(纯度 96.4%,批号 110736-201438),柚皮苷(纯度 99.0%,批号 110722-201009),新橙皮苷(纯度 99.6%,批号 111857-201102),丹酚酸 B(纯度 97.0%,批号 111562-201313),丹参酮 II<sub>A</sub>(纯度 100%,批号 110766-201520),对照药材丹参(批号 120923-201414),当归(批号 10927-201014),乳香(批号 120970-201305),没药(批号 120967-201405)均为中国食品药品检定研究院提供。疏经防痛胶囊为成都中医药大学附属医院药剂科自制(批号 140701,140702,140703);乙腈色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 鉴别

**2.1.1 丹参薄层鉴别**<sup>[4-5]</sup> 取内容物颗粒 5.0 g,加乙醚 20 mL,超声处理 20 min,滤过,滤液水浴挥干,加乙酸乙酯使残渣溶解并定容至 1 mL,作为供试品溶液。取缺丹参的阴性样品 5.0 g,按上述方法制成阴性供试品溶液。再取丹参对照药材 1 g,加乙醚 5 mL,按上述方法制成丹参对照药材溶液;另取丹参酮 II<sub>A</sub> 对照品适量,精密称定,置 5 mL 量瓶中,加乙酸乙酯溶解并稀释至刻度,制成质量浓度为 1 g·L<sup>-1</sup> 的对照品溶液。按照 2010 年版《中国药典》薄层色谱法试验,吸取上述对照品溶液、阴性供试品溶液及供试品溶液各 5 μL,点于同一硅胶 G 薄层板上,展开剂为环己烷-乙酸乙酯(6:1),置展开缸中预饱和 15 min,展开,展距 8 cm,取出,晾干,置日光下检视。阴性无干扰,供试品、对照品和对照药材在薄层色谱相应的位置,显相同的暗红色斑点。

**2.1.2 当归薄层鉴别**<sup>[4-5]</sup> 取本品内容物 3.0 g,加水 20 mL,超声 5 min 使溶解,加石油醚(30~60℃)振摇萃取 2 次,每次 20 mL,合并石油醚液,水浴挥干,加乙酸乙酯使残渣溶解并定容至 1 mL,作为供试品溶液。取缺当归的阴性样品 3.0 g,按上述方法制成阴性供试品溶液。另取当归对照药材 1 g,加乙醚(30~60℃)20 mL,超声处理 10 min,滤过,滤液

挥干,残渣加乙酸乙酯 0.5 mL 使溶解,作为当归对照药材溶液。按照 2010 年版《中国药典》薄层色谱法试验,吸取上述对照品溶液、阴性供试品溶液及供试品溶液各 5 μL,点于同一硅胶 G 薄层板上,展开剂为正己烷-乙酸乙酯(9:1),置展开缸中预饱和 15 min,展开,展距 10 cm,取出,晾干,置紫外(365 nm)下检视。阴性无干扰,供试品和对照药材在薄层色谱相应的位置,显相同颜色的荧光斑点。

**2.1.3 乳香、没药薄层鉴别**<sup>[6-7]</sup> 取研细的内容物 2.5 g,加乙醇 20 mL,超声处理 20 min,滤过,滤液蒸干,加甲醇使残渣溶解并定容至 2 mL,作为供试品溶液。取缺乳香、没药的阴性样品 2.5 g,按上述方法制成阴性供试品溶液。另取乳香、没药对照药材各 0.5 g,分别加乙醇 5 mL,超声处理 10 min,滤过,滤液蒸干,加入甲醇使残渣溶解并定容至 1 mL,分别作为乳香、没药对照药材溶液。按照 2010 年版《中国药典》薄层色谱法试验,吸取上述对照品溶液、阴性供试品溶液及供试品溶液各 5 μL,点于同一硅胶 G 薄层板上,展开剂为环己烷-乙酸乙酯(19:1),置展开缸中预饱和 15 min,展开,展距 12 cm,取出,晾干,喷 5% 香草醛硫酸溶液,置 105℃ 烘箱中,烘至斑点显色清晰,置日光下检视。阴性无干扰,供试品和对照药材在薄层色谱相应的位置,显相同颜色的斑点。

### 2.2 含量测定

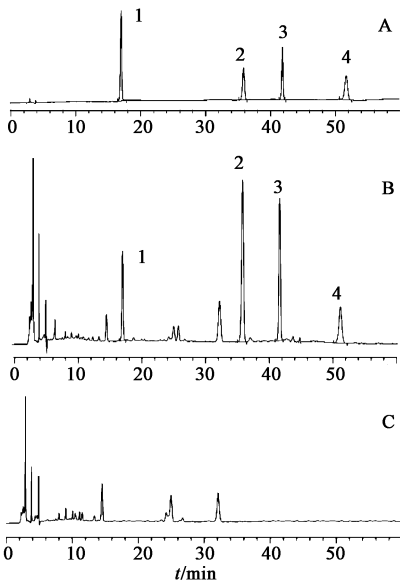
**2.2.1 色谱条件** Global C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈(A)-0.1% 磷酸溶液(B)梯度洗脱(0~5 min,10%~15% A;5~10 min,15% A;10~15 min,15%~17% A;15~35 min,17%~20% A;35~40 min,20%~25% A;40~45 min,25%~23% A;45~50 min,23%~21% A;50~53 min,21% A;53~55 min,21%~10% A),柱温 25℃,检测波长 230 nm,进样量 10 μL,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>。

**2.2.2 对照品溶液的制备** 取芍药苷、柚皮苷、新橙皮苷、丹酚酸 B 对照品适量,精密称定,加甲醇制成分别含芍药苷 506.00 mg·L<sup>-1</sup>,柚皮苷 253.60 mg·L<sup>-1</sup>,新橙皮苷 304.80 mg·L<sup>-1</sup> 和丹酚酸 B 554.30 mg·L<sup>-1</sup> 的混合对照品溶液。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 取疏经防痛胶囊内容物适量,研细,混匀,取约 0.6 g,精密称定,置 150 mL 具塞锥形瓶中,加 80% 甲醇 50 mL,密塞,称定质量,超声(功率 250 W,频率 50 kHz)处理 30 min,放冷,再称定质量,用 80% 甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

**2.2.4 阴性对照溶液的制备** 取缺白芍(酒)、枳壳、丹参的阴性对照样品 0.6 g,精密称定,按照供试品溶液的制备项下方法处理,制成阴性对照溶液。

**2.2.5 系统适应性试验** 取供试品溶液、阴性对照溶液和混合对照品溶液适量,按上述色谱条件进样测定,见图 1。结果表明芍药苷、柚皮苷、新橙皮苷、丹酚酸 B 与其相邻的组分均达到基线分离,分离度 > 1.5;阴性样品在与芍药苷、柚皮苷、新橙皮苷及丹酚酸 B 相对应的保留时间处无色谱峰出现,表明阴性无干扰。理论塔板数以芍药苷和丹酚酸 B 峰计均不低于 2 000。



A. 混合对照品; B. 样品; C. 阴性对照; 1. 芍药苷; 2. 柚皮苷; 3. 新橙皮苷; 4. 丹酚酸 B

图 1 疏经防痛胶囊 HPLC

Fig. 1 HPLC of Shujing Fangtong capsule

**2.2.6 线性范围考察** 精密吸取 2.2.2 项下对照品溶液 1, 2, 3, 5, 10, 20 mL, 置 20 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 精密吸取 10  $\mu$ L, 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件测定。以进样浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 进行线性回归。得回归方程, 芍药苷  $Y = 12.450X - 6.7773$  ( $r = 1.000$ ), 柚皮苷  $Y = 14.624X - 19.249$  ( $r = 0.9999$ ), 新橙皮苷  $Y = 12.479X - 1.3593$  ( $r = 0.9999$ ), 丹酚酸 B  $Y = 6.9096X - 1.4649$  ( $r = 0.9999$ )。结果表明芍药苷在 25.30 ~ 506.00  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 柚皮苷在 12.68 ~ 253.60  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 新橙皮苷在 15.24 ~ 304.80  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 丹酚酸 B 在 27.72 ~ 554.30  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 进样浓度与峰面积呈良好的线性关系。

**2.2.7 精密度试验** 分别精密吸取混合对照品溶液各 10  $\mu$ L, 连续进样 6 次测定, 结果芍药苷、柚皮

苷、新橙皮苷、丹酚酸 B 峰面积的 RSD 分别为 0.5% , 0.7% , 0.5% , 1.1% 。

**2.2.8 稳定性试验** 取同一供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 进样 10  $\mu$ L, 按上述色谱条件, 记录色谱峰面积, 结果芍药苷、柚皮苷、新橙皮苷、丹酚酸 B 峰面积的 RSD 分别为 0.9% , 1.4% , 2.1% , 2.2% , 表明供试品溶液 12 h 内稳定性良好。

**2.2.9 重复性试验** 取同一批疏经防痛胶囊(批号 140701) 样品 6 份, 每份约 0.6 g, 精密称定, 制备供试品溶液, 按上述色谱条件测定, 结果芍药苷、柚皮苷、新橙皮苷、丹酚酸 B 的质量分数分别为 8.541 2, 7.198 3, 6.157 3, 8.594 9  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , RSD 分别为 0.8% , 1.6% , 1.8% , 1.9% 。

**2.2.10 加样回收率试验** 取同一批疏经防痛胶囊(批号 140701) 样品 6 份, 每份约 0.3 g, 精密称定, 分别加入芍药苷(507.45  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 柚皮苷(433.03  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 新橙皮苷(390.83  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 丹酚酸 B(516.23  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 对照品溶液各 5 mL, 制备供试品溶液, 按上述色谱条件测定, 计算回收率。结果见表 1。

**2.2.11 样品测定** 取不同批次的疏经防痛胶囊样品, 制备供试品溶液, 按上述色谱条件测定, 分别采用外标法计算样品中芍药苷、柚皮苷、新橙皮苷、丹酚酸 B 的含量。结果见表 2。

### 3 讨论

建立 4 种指标成分含量测定方法时, 由于 4 种成分的最大吸收波长介于 230 ~ 286 nm, 因此采用 DAD 检测器在 230, 260, 286 nm 3 种条件下同时对样品进行考察, 结果在 230 nm 处的样品呈现的色谱峰干扰物最少, 且基线最为平稳; 同时考察不同时间段切换波长的方式来检测, 由于检测器自身未达到平衡导致基线波动大, 影响了主峰的积分, 因此, 最终选择在 230 nm 处同时测定 4 种指标成分。

分别考察了稀乙醇, 75% 乙醇, 95% 乙醇, 60% 甲醇, 80% 甲醇及甲醇 6 种提取溶剂, 其中以 95% 乙醇和甲醇作提取溶剂时, 芍药苷的提取率均低于 60%, 究其原因可能是本制剂中含有白芍原生药粉, 而白芍含有大量的淀粉类成分, 因而部分芍药苷由于淀粉的包裹无法充分溶出; 溶剂含水量增加至 20% 以上, 淀粉类成分中的芍药苷充分溶出, 且整体提取率无明显变化, 但溶液的滤过难度和杂质也相应增加, 且乙醇明显大于甲醇, 综合比较, 选择 80% 甲醇作提取溶剂。

在进行乳香、没药的鉴别时, 由于两者均为树脂

表 1 疏经防痛胶囊中 4 种成分的加样回收率试验

Table 1 Results of recovery experimental of Shujing Fangtong capsule

成分	称样量/g	样品中量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
芍药苷	0.304 4	2.599 9	2.537 2	5.159 5	100.88	100.69	0.9
	0.303 6	2.593 1	2.537 2	5.134 5	100.16		
	0.302 5	2.583 7	2.537 2	5.128 9	100.31		
	0.302 9	2.587 1	2.537 2	5.143 5	100.75		
	0.300 5	2.566 6	2.537 2	5.098 9	99.80		
	0.301 7	2.576 9	2.537 2	5.171 3	102.25		
柚皮苷	0.304 4	2.191 2	2.165 2	4.396 2	101.84	100.08	1.6
	0.303 6	2.185 4	2.165 2	4.393 2	101.97		
	0.302 5	2.177 5	2.165 2	4.345 5	100.13		
	0.302 9	2.180 4	2.165 2	4.343 7	99.92		
	0.300 5	2.163 1	2.165 2	4.297 4	98.58		
	0.301 7	2.171 7	2.165 2	4.294 3	98.03		
新橙皮苷	0.304 4	1.874 3	1.954 2	3.819 5	99.54	100.85	1.2
	0.303 6	1.869 4	1.954 2	3.865 7	102.16		
	0.302 5	1.862 6	1.954 2	3.807 8	99.54		
	0.302 9	1.865 0	1.954 2	3.836 7	100.90		
	0.300 5	1.850 3	1.954 2	3.818 9	100.74		
	0.301 7	1.857 7	1.954 2	3.855 6	102.24		
丹酚酸 B	0.304 4	2.616 3	2.581 2	5.197 6	100.01	100.42	2.0
	0.303 6	2.609 4	2.581 2	5.203 7	100.51		
	0.302 5	2.600 0	2.581 2	5.218 7	101.46		
	0.302 9	2.603 4	2.581 2	5.098 9	96.68		
	0.300 5	2.582 8	2.581 2	5.198 9	101.36		
	0.301 7	2.593 1	2.581 2	5.238 9	102.50		

表 2 疏经防痛胶囊样品中 4 种成分含量测定 (n=3)

Table 2 Determination of Shujing Fangtong capsule (n=3)

批号	mg·g <sup>-1</sup>			
	芍药苷	柚皮苷	新橙皮苷	丹酚酸 B
140701	8.540 9	7.194 5	6.512 3	8.664 3
140702	8.740 7	7.236 2	6.571 4	8.456 7
140703	8.614 7	7.237 1	6.428 7	8.753 9

类中药,含有相似化学成分,无法单独进行阴性干扰试验,因此确定将两者同时去除后制备阴性样品。

[参考文献]

[1] 朱丽红,杨家林. 杨家林教授治疗妇科痛症经验介绍[J]. 新中医,2007,39(9):13-14.  
 [2] 曾倩,曹旭升,朱乐章,等. 由“疏经防痛”切入探讨原发性痛经的防治[J]. 福建中医药,2009,40(4):57-58.  
 [3] 曾倩,徐晓娟,彭卫东,等. 以安慰剂为对照评价疏经防痛胶囊治疗原发性痛经临床疗效[J]. 辽宁中医杂

志,2014,41(3):388-389.  
 [4] 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,2010:70.  
 [5] 贾佳琳,朱旭江,王兰霞. 妇可靖胶囊质量标准研究[J]. 中药材,2014,37(10):1881-1885.  
 [6] 郑新元,张荣,王杰,等. 西黄丸定性定量方法的研究[J]. 药物分析杂志,2011,31(7):1410-1413.  
 [7] 聂黎行,刘燕,戴忠,等. 活血止痛制剂质量标准研究[J]. 中国药学杂志,2012,47(12):989-992.  
 [8] 陈有军,赵瑞芝,赵焱,等. HPLC-PDA 法测定银屑灵流膏中五种成分的含量[J]. 中成药,2010,32(9):1522-1525.  
 [9] 王哲. HPLC 法测定心炎平胶囊中芍药苷的含量[J]. 辽宁中医杂志,2014,41(2):306-307.  
 [10] 张金莲,何敏,谢一辉,等. 高效液相法测定枳壳饮片中柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(6):68-70.

[责任编辑 顾雪竹]