

止泻合剂的质量标准研究

王迅*, 周琴妹, 吴旭彤, 刘顺
(江苏省中医院药学部, 南京 210029)

[摘要] 目的: 建立止泻合剂的质量标准。方法: 采用 TLC 对制剂中的主要药材进行定性鉴别, 用 HPLC 测定芍药苷的含量。结果: 用 TLC 鉴别止泻合剂中的秦皮、白芍、苍术、地锦草、木香等有效成分, 方法简便易行、专属性强、重复性好, 检出斑点清晰。芍药苷进样量在 $0.509 \sim 16.31 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 线性关系良好, 平均加样回收率为 96.79%, RSD 1.7% ($n=6$)。结论: 所建立的 TLC 和 HPLC 方法简便, 专属性强, 重复性好, 可用于止泻合剂的质量控制。

[关键词] 止泻合剂; 芍药苷; TLC 法; HPLC

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0126-04

Studies on Quality Specification of Zhixieheji

WANG Xun*, ZHOU Qin-mei, WU Xu-tong, LIU Shun

(Department of Pharmacy, Jiangsu Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the quality specification of Zhixieheji. **Method:** TLC method to identify the active ingredient of Zhixieheji of Cortex Fraxini, Paeoniae Radix, Atractylodes Lancea, Euphorbiae Humifusae, Radix Aucklandiae. The method is simple, specific, and reproducible; detection spots were clear. Of paeoniflorin in the injection volume $0.509\text{-}16.31 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, and linear range of the relationship is good. The average recovery was 96.79%, RSD was 1.7% ($n=6$). **Conclusion:** The method is simple, efficient, sensitive and can be applied to quality control of Zhixieheji.

[Key words] Zhixieheji; paeoniflorin; TLC; HPLC

止泻合剂为我院专家的协定处方, 由秦皮、白芍、苍术、地锦草、木香、风尾草等中药组成, 具清热燥湿、涩肠止泻的功效, 经临床应用多年, 疗效显著。为了更好的控制其质量, 我们采用 TLC 对方剂中秦皮、白芍、苍术、地锦草、木香等进行了定性鉴别, 采用 HPLC 测定其君药白芍中的芍药苷含量, 为建立完整的质量标准提供了依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 930 型全自动薄层制板器, 101-1A 型电热鼓风干燥箱, HH.S 型电热恒温水浴锅, HG/T2354-92 型薄层层析硅胶(青岛海洋化工集团), 1/万分析天平, Waters2695 高效液相色谱系统, 515 泵, 2487 紫外检测仪。

1.2 试剂 甲醇、乙腈为色谱纯(天津市四友生物

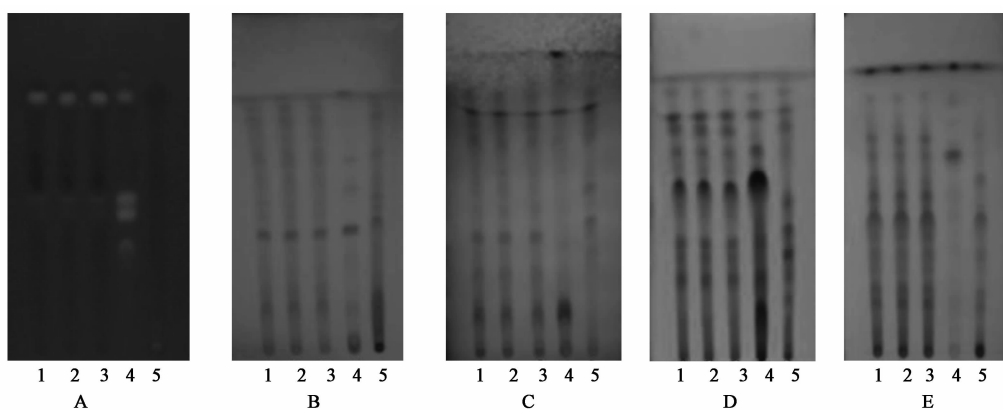
医学技术有限公司), 水为重蒸水, 薄层色谱用硅胶 G、薄层层析硅胶 GF₂₅₄(中国青岛海洋化工集团公司)。对照品芍药苷(批号 110736-200526, (中国药品生物制品检定所), 对照药材秦皮、白芍、苍术、地锦草、木香(中国药品生物制品检定所), 其他试剂均为分析纯, 止泻合剂样品批号 110726, 110730, 110803, 由本院制剂实验室生产。

2 定性鉴别

2.1 秦皮的鉴别 取止泻合剂 10 mL, 加水 20 mL 稀释, 用正丁醇溶液 30 mL, 分两次萃取, 合并正丁醇萃取液, 水浴蒸干, 残渣加甲醇 2 mL 溶解, 作为供试品溶液。同法制得秦皮阴性样品溶液。另取秦皮对照药材粉末 3 g, 加水 50 mL, 热回流 1 h, 滤过, 滤液放冷, 用正丁醇 30 mL 萃取 1 次, 取正丁醇萃液, 水浴蒸干, 残渣加甲醇 2 mL 溶解, 作为对照药材溶液。照薄层色谱法试验, 吸取上述溶液各 5 μL , 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-醋酸乙酯-乙醇-甲酸(3:4:2:1)

[收稿日期] 20120712(011)

[第一作者] 王迅, 从事中药学研究, Tel: 13305197796, E-mail: xiaowangyaoshi@hoowail.com



1~3. 止泻合剂; 4. 对照药材; 5. 止泻合剂阴性

A. 秦皮; B. 白芍; C. 苍术; D. 地锦草; E. 木香

为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下观察^[1]。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的亮兰色荧光,而阴性样品在相应的位置无斑点(图1)。

2.2 白芍的鉴别 取2.1项下供试品溶液。同法制得白芍阴性样品溶液。取白芍对照药材粉末3 g,加水50 mL,热回流1 h,滤过,滤液放冷后,用正丁醇30 mL萃取1次,取正丁醇萃取液,水浴蒸干,残渣加甲醇2 mL溶解,作为对照药材溶液。照薄层色谱法试验,吸取上述溶液各5 μ L,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶G薄层板上,以氯仿-醋酸乙酯-甲醇-甲酸(40:5:10:0.2)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以5%香草醛硫酸溶液,加热至斑点显色清晰^[2]。供试品色谱中,在与对照品及对照药材色谱相应的位置上,显相同的蓝紫色斑点,而阴性样品在相应的位置无斑点(图2)。

2.3 苍术的鉴别 取2.1项下供试品溶液,同法制得苍术阴性样品溶液。取苍术药材粗粉3 g,加水50 mL,煎煮1 h,滤过,滤液放冷后用正丁醇萃取两次,每次20 mL,合并正丁醇萃取液,水浴蒸干,残渣用甲醇定容至2 mL,作为对照药材溶液。照薄层色谱法试验,吸取上述两种溶液各10 μ L,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶G薄层板上,以氯仿-醋酸乙酯-甲醇-甲酸(40:5:10:0.2)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以5%香草醛硫酸溶液,加热至斑点显色清晰^[3]。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同的黑色斑点,而阴性样品在相应的位置无斑点(图3)。

2.4 地锦草的鉴别 取2.1项下供试品溶液。同法制得地锦草阴性样品溶液。取地锦草药材5 g,加水100 mL,热回流1 h,滤过,滤液放冷后用正丁醇萃取2次,每次20 mL,合并正丁醇萃取液,水浴蒸

干,残渣用甲醇定容至2 mL,作为对照药材溶液。照薄层色谱法试验,吸取上述2种溶液各10 μ L,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶GF₂₅₄薄层板上,以氯仿-醋酸乙酯-甲醇-甲酸(40:5:10:0.2)为展开剂,展开,取出,晾干后置紫外灯下(254 nm)观察^[4]。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同的黑色斑点,而阴性样品在相应的位置无斑点(图4)。

2.5 木香的鉴别 取止泻合剂5 mL加水稀释至20 mL,用醋酸乙酯萃取2次,每次30 mL,合并萃取液,水浴蒸干,残渣用甲醇定容至1 mL,作为供试品溶液。另取木香药材粗粉3 g,加水50 mL,煎煮1 h,滤过,滤液用醋酸乙酯萃取2次,每次30 mL,合并萃取液,水浴蒸干,残渣用甲醇定容至1 mL,作为对照药材溶液。照薄层色谱法试验,吸取上述两种溶液各10 μ L,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶G薄层板上,以甲苯-醋酸乙酯-冰醋酸(15:5:2)为展开剂,展开,取出,晾干,磷钼酸溶液显色^[5]。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同的兰黑色斑点,而阴性样品在相应的位置无斑点(图5)。

3 芍药苷含量测定

3.1 色谱条件 Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm \times 200 mm, 5 μ m), 流动相 乙腈-2% 磷酸水(14:86), 检测波长 275 nm, 柱温 25 $^{\circ}$ C, 流速 1 mL \cdot min⁻¹, 进样量 20 μ L^[6]。

3.2 溶液的制备

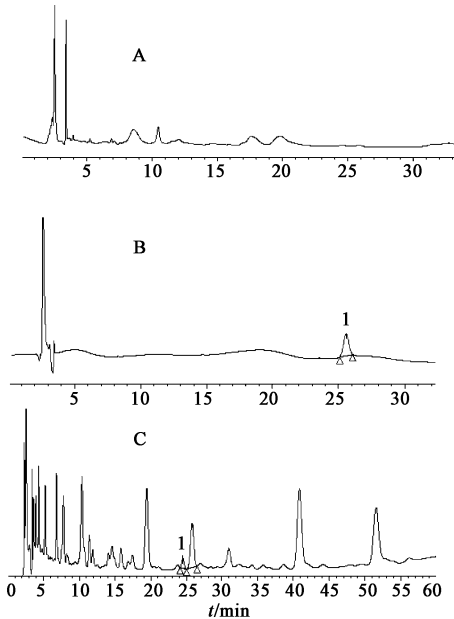
3.2.1 对照品溶液制备 取经过五氧化二磷减压干燥至恒重的芍药苷对照品适量,精密称定,加50%的甲醇制成1.631 g \cdot L⁻¹的溶液,稀释100倍,即得对照品溶液16.31 mg \cdot L⁻¹^[7]。

3.2.2 供试品溶液的制备 取止泻合剂2 mL,蒸

干,用 50% 甲醇适量超声提取 30 min,定容至 25 mL 的量瓶中,摇匀,滤过,弃去初滤液,取续滤液作为供试液^[8]。

3.2.3 阴性样品的制备 取缺白芍的止泻合剂样品溶液约 5 mL,蒸干,用 50% 甲醇适量超声提取 30 min,50% 甲醇定容至 25 mL 的量瓶中,摇匀,滤过,弃去初滤液,取续滤液作为阴性样品供试液。

3.3 系统适应性试验 分别取对照品溶液、样品溶液、阴性样品供试液各 20 μL ,注入色谱仪,记录色谱图。图中可见样品色谱峰与其他杂质峰分离良好,即本实验条件下芍药苷与其他组分分离良好。理论塔板数以芍药苷峰计不低于 2 500(图 6)。



A. 阴性样品;B. 对照品;C. 供试品

图 6 系统适应性

3.4 标准曲线的制备 精密吸取对照品溶液依次稀释成 8.15,4.07,2.035 1,1.018,0.509 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 5 个浓度,分别吸取不同浓度对照品 20 μL 注入高效液相色谱仪中测定,每个浓度进样 2 次。以峰面积对进样量进行回归^[9],得方程 $A = 35\ 924C - 5\ 322.4$ ($R^2 = 0.999\ 9$),表明芍药苷进样量在 0.509 ~ 16.31 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 线性关系良好。

3.5 精密度试验 精密吸取 3.2.1 项下的对照品溶液稀释 4 倍后,连续进样 6 次,每次 20 μL ,测得芍药苷峰面积。结果 RSD 1.18%,表明仪器精密度良好^[10]。

3.6 重复性试验 取同一批样品,按 3.2.2 项下方法分别制备 6 份供试品溶液,测定芍药苷的含量,结果 RSD 1.82%,表明方法重复性良好^[11]。

3.7 稳定性试验 取同一供试品溶液分别于 0,2,4,6,8,10 h 进样 15 μL ,测定芍药苷的峰面积,结果 RSD 1.80%,表明供试品溶液在 10 h 内稳定。

3.8 加样回收率试验 精密量取已知含量的止泻合剂 1 mL,共 6 份,分别加入芍药苷标准品溶液 (16.31 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 各 10 mL 按 3.2.2 项下方法制备,测定芍药苷的含量,结果平均回收率为 97.22%,RSD 1.14% ($n = 6$)^[12]。

3.9 样品的测定 精密吸取供试品溶液,依法操作,由标准曲线计算得样品含量,结果批号 110726,110730,110803 3 批样品的质量分数分别为 0.189 3,0.173 5,0.183 2 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

4 讨论

4.1 供试品溶液制备,前处理方法原为用水溶解,正丁醇萃取 3 次,蒸干后用 50% 甲醇定容,试验结果表明此方法处理供试品杂质较多,分离效果不理想。故采用 50% 的甲醇超声提取,效果较好。

4.2 提取溶剂选择,甲醇的浓度对样品中芍药苷的分离影响较为明显,高浓度甲醇的溶剂峰干扰了样品的峰形。经多次试验,证明用 50% 的甲醇作为溶剂的实验效果理想。

4.3 流动相选择,先后用不同比例的乙腈-0.2% 磷酸水溶液为流动相,结果表明,采用乙腈-0.2% 磷酸水溶液 (16:84) 为流动相的芍药苷峰已达到基线分离,理论塔板数按芍药苷峰计算不少于 2 500,峰形对称,分离度较好。

[参考文献]

- [1] 刘丽梅,王振月,康琛,等. 秦皮商品药材的调查及薄层色谱鉴别[J]. 中国中药杂志,2004,29(12):1196.
- [2] 王倩,李韶英. 蛇胆追风丸的薄层色谱鉴别[J]. 中国药业 2008,17(20):33.
- [3] 赵森森,王瑞,俞桂新,等. 苍术的定性定量分析方法研究[J]. 药物分析杂志,2010,30(5):954.
- [4] 虞金宝,余良忠,李才堂,等. 肠炎宁片的薄层色谱研究[J]. 时珍国医国药,2008,19(12):2894.
- [5] 朱俊彦,张晶. 归脾丸(浓缩丸)质量标准研究[J]. 中成药,2006(8):1132.
- [6] 孟宪波,郑晖. HPLC 测定柴芩丸中芍药苷、栀子苷及丹皮酚的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(17):72.
- [7] 国家药典委员会. 中国药典[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010.
- [8] 张鹏. HPLC 法测定妇康宁颗粒中芍药苷的含量[J]. 中国现代医药杂志 2006,8(7):57.

培元通脑胶囊质量标准研究

李海燕, 宋汉敏, 李振国*

(河南省食品药品检验所, 郑州 450003)

[摘要] **目的:**建立培元通脑胶囊的质量标准。**方法:**采用薄层色谱法对培元通脑胶囊中何首乌、肉桂、赤芍及肉苁蓉进行定性鉴别;HPLC测定何首乌中2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D葡萄糖苷的含量。色谱条件:Agilent ZORBAX SB-C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相乙腈-水(15:85),流速1.0 mL·min⁻¹。**结果:**TLC的斑点清晰、分离度较好,阴性无干扰;2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D葡萄糖苷在0.064 5~0.805 9 μg线性关系良好,平均回收率为99.4%,RSD 2.2%(n=6)。**结论:**所建标准可用于培元通脑胶囊的质量控制。

[关键词] 培元通脑胶囊;薄层色谱;何首乌;肉桂;赤芍;肉苁蓉;2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D葡萄糖苷;HPLC

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)02-0129-04

Studies of Quality Standard on Peiyuantongnao Capsule

LI Hai-yan, SONG Han-min, LI Zhen-guo*

(Henan Provincial Institute of Food and Drug Control, Zhengzhou 450003, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the methods of identification and assay in Peiyuantongnao Capsule. **Method:** TLC was used to determine *Polygonum multiflorum*, *Cinnamomum cassia*, *Paeoniae radix rubra*, *Herba Cistanches* and HPLC was used to determine the content of stilbene glycoside. **Result:** The spots of TLC were fairly clear with the good separation. The linear range of baicalin was from 0.064 5 to 0.805 9 μg. The average recovery was 99.4%, RSD was 2.2% (n=6). **Conclusion:** The established standard is applicable for the quality control of Peiyuantongnao Capsule.

[Key words] Peiyuantongnao Capsule; TLC; *Polygonum multiflorum*; *Cinnamomum cassia*; *Paeoniae radix rubra*; *Herba cistanches*; stilbene glycoside; HPLC

培元通脑胶囊收载于新药转正标准第37册^[1],主要功效为益肾填精、息风通络,用于缺血性中风中经络恢复期肾元亏虚、瘀血阻络证。原标准较繁琐,

且不能对药品进行有效质量控制,作者根据处方所含药味的化学成分及剂型特点,全面提高了质量标准,研究修订了何首乌、肉桂、赤芍的薄层色谱鉴别,

[收稿日期] 20120629(006)

[第一作者] 李海燕,主管药师,硕士,从事中药分析研究,Tel:13523578028,0371-63388283, E-mail: kjlhy@139.com

[通讯作者] *李振国,主任药师,Tel: 0371-63388168, E-mail: hnyj111@yahoo.com.cn

- [9] 倪文澎,钱平,周琴妹,等. RP-HPLC法同时测定养生丸中芍药苷和阿魏酸的含量[J]. 中国药师,2010,13(8):1114.
- [10] 何建雄,赖小平,魏刚,等. HPLC测定银翘柴桂汤中绿原酸、芍药苷、黄芩苷[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(6):48.

- [11] 张孝法. HPLC法测定逍遥软胶囊中芍药苷的含量[J]. 中草药,2004,35(10):1137.
- [12] 李丽华,阎翠兰,刘文泰. 高效液相色谱法测定脏腑和胶囊中芍药苷的含量[J]. 中国药学杂志,2004,39(4):307.

[责任编辑 顾雪竹]