

舒胆通颗粒的质量标准研究

吴静, 陆红*

(浙江中医药大学, 杭州 310053)

[摘要] **目的:**建立舒胆通颗粒的质量标准。**方法:**采用薄层色谱法对舒胆通颗粒中栀子苷、大黄酸和延胡索乙素进行定性鉴别,并采用 HPLC 测定栀子苷含量。色谱柱:Agilent ZORBAX C₁₈柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm);流动相乙腈-水(15:85),检测波长 238 nm,柱温 30 ℃,流速 1 mL·min⁻¹,进样量 10 μL。**结果:**在薄层鉴别中能检出栀子苷、大黄酸和延胡索乙素,栀子苷在 15.1 ~ 151.0 mg·L⁻¹具有良好的线性关系($r=0.9999$);平均回收率为 100.45%,RSD 0.48%。**结论:**使用薄层色谱法对舒胆通颗粒中栀子苷、大黄酸和延胡索乙素进行定性鉴别,操作简便,重现性好,且阴性对照无干扰;栀子苷的含量测定方法简便、快速、准确,具有良好的重复性和回收率,可作为舒胆通颗粒中栀子苷的质量控制方法。

[关键词] 舒胆通颗粒; 栀子苷; 大黄酸; 延胡索乙素; 薄层鉴别; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)07-0089-04

[doi] 10.11653/zgsyfjzxx2013070089

Study on the Quality Standard of Shudantong Granules

WU Jing, LU Hong*

(Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the quality standard of Shudantong Granules. **Method:** The jasminoidin, rhein and tetrahydropalmatine in Shudantong Granules were identified by TLC, and the content of jasminoidin was detected by HPLC. The separation was carried out on an Agilent ZORBAX C₁₈ column (4.6 mm ×

[收稿日期] 20120919(009)

[基金项目] 浙江省中医药管理局项目(2006C021)

[第一作者] 吴静, 硕士研究生, 从事中药药理学研究.

[通讯作者] * 陆红, 教授, 从事中药药理学研究. Tel: 0571-86613601, E-mail: luhong03@hotmail.com.cn

3 结论

本实验通过近红外光谱法与化学计量学技术相结合,采用偏最小二乘法建立了快速测定延胡索中绿原酸、木犀草苷及 3,5-O-双咖啡酰基奎宁酸含量的分析方法,结果表明该方法准确、简便、快速、无污染,可实现大批量样品的快速分析,为控制“浙八味”药材及饮片的质量提供了新的手段。

[参考文献]

[1] 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.
[2] 黄倩倩, 潘瑞乐, 魏建和, 等. 近红外漫反射光谱法测定黄芩中总黄酮及黄芩苷的含量[J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29(9): 2425.

[3] 雷敬卫, 郭艳利, 白雁, 等. 山檀药材中银松素含量近红外定量模型的建立[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(17): 75.
[4] 杨欣, 杨瑞瑞, 罗定强. 黄芩近红外漫反射光谱法定量模型的建立及应用[J]. 西北药学杂志, 2010, 25(3): 184.
[5] 曾焕俊, 韩莹. 复方盐酸伪麻黄碱缓释胶囊近红外定性模型的建立[J]. 今日药学, 2010, 20(9): 35.
[6] 白燕, 张威, 王星, 等. 近红外光谱法测定不同厂家银黄颗粒中黄芩苷含量[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(2): 166.
[7] 陆婉珍. 现代近红外光谱分析技术[M]. 2 版. 北京: 中国石化出版社, 2007.

[责任编辑 顾雪竹]

250 mm, 5 μm). The mobile phase consisted of acetonitrile-water (15:85). The detective wavelength was set at 238 nm. The column temperature was kept at 30 $^{\circ}\text{C}$. The flow rate was 1.0 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ and the injection volume was 10 μL . **Result:** The jasminoidin, rhein and tetrahydropalmatine could be identified by TLC and the calibration curve of jasminoidin showed a good linearity over the range of 15.1-151.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ($r = 0.9999$). The average recovery was 100.45% with RSD 0.48%. **Conclusion:** This method to identify three main ingredients in Shudantong Granules by TLC is simple and has a great repeatability. The negative control sample has no interference. The method to determine the content of jasminoidin in Shudantong Granules is rapid, accurate and its results have a good repeatability and recovery. This method can be used as the quality control method for this preparation.

[**Key words**] Shudantong Granules; jasminoidin; rhein; tetrahydropalmatine; TLC; content determination

舒胆通颗粒(Shudantong granules, SDT)是根据著名的肝胆病专家、国家级名老中医陆芷青教授的经验方研制而成的现代中药。原处方以通调气血、清热泻积立意,由栀子、大黄、延胡索等 8 味中药组成。其中,栀子具有缓泻镇痛、利胆的作用,为君药;大黄能清热凉血、泻下通便,延胡索能活血、行气、止痛,为臣药^[1-3]。临床应用该方治疗肝胆病症 40 余年,证实该方具有利胆排石、消炎止痛的功效,对肝胆病具有良好的疗效。本文采用薄层色谱法(TLC)对制剂中的君药栀子以及臣药大黄和延胡索中所含的 3 种主要成分进行定性鉴别,并采用高效液相色谱法(HPLC)对栀子苷进行含量测定,为该制剂的质量控制提供参考依据。

1 材料

1.1 仪器 Agilent 1100 高效液相色谱仪, DAD-100 二极管阵列紫外检测器, HP-Chemstation 色谱工作站; CP225D 电子天平(德国塞多利斯公司); KQ-250 型超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司); ZF-I 型三用紫外线分析仪(上海顾村电光仪器厂)。

1.2 试药 硅胶 G 薄层板、薄层层析硅胶 G(青岛海洋化工有限公司生产,批号 20050124); 栀子对照药材、大黄对照药材、延胡索对照药材、栀子苷对照品、大黄酸对照品、延胡索乙素对照品均来自中国药品生物制品研究所(批号依次为 120986-200303, 120984-200301, 120928-200403, 110749-200511, 0757-200206); 舒胆通颗粒样品由浙江中医药大学制剂室提供(批号 20060410, 20060412, 20060414); 各缺成分舒胆通颗粒样品由浙江中医药大学制剂室提供(批号 20060410, 20060412, 20060414); 乙腈为色谱纯; 水是双蒸水; 其余所有试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 舒胆通颗粒中栀子苷、大黄酸和延胡索乙素的薄层定性鉴别

2.1.1 栀子苷的薄层鉴别 样品溶液的制备:取舒胆通颗粒样品 1.0 g,加 50% 甲醇 10 mL,超声处理 40 min,滤过,取滤液作为样品溶液。

阴性样品溶液的制备:取按处方比例及制备工艺制得缺栀子的舒胆通颗粒样品 1.0 g,按样品溶液制备法制成阴性样品溶液。

栀子对照药材溶液的制备:取栀子对照药材粉末 1.0 g,按样品溶液制备法制成对照药材溶液。

栀子苷对照品溶液的制备:取栀子苷对照品 2.0 mg,加乙醇 5 mL 溶解,制成对照品溶液。

薄层层析:分别吸取上述溶液各 5 μL ,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-丙酮-甲酸-水(5:5:1:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 110 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰。实验结果见图 1-A。

2.1.2 大黄酸的薄层定性鉴别 样品溶液的制备:取舒胆通颗粒样品 1.0 g,加 50% 甲醇 10 mL,超声处理 40 min,滤过,加盐酸 1 mL,加热回流 30 min,立即冷却,用乙醚分 2 次提取,每次 20 mL,合并乙醚液,蒸干,残渣加三氯甲烷 1 mL 使溶解,制成样品溶液。

阴性样品溶液的制备:取按处方比例及制备工艺制得缺大黄的舒胆通颗粒样品 1.0 g,按样品溶液制备法制成阴性样品溶液。

大黄对照药材溶液的制备:取大黄对照药材 1.0 g,加甲醇 20 mL,回流 30 min,取滤液 5 mL,蒸干,残渣加水 10 mL 使溶解,超声处理 40 min,滤过,加盐酸 1 mL,加热回流 30 min,冷却,用乙醚分 2 次提取,每次 20 mL,合并乙醚液,蒸干,残渣加三氯甲烷 1 mL 使溶解,制成对照药材溶液。

大黄酸对照品溶液的制备:取大黄酸对照品 2.0 mg,加甲醇 2 mL 溶解,作为对照品溶液。

薄层层析:分别吸取上述溶液各 4 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,以石油醚(30~60℃)-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1)的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果见图 1-B。

2.1.3 延胡索乙素的薄层定性鉴别 样品溶液的制备:取舒胆通颗粒样品 1.0 g,加 50% 甲醇 10 mL,超声处理 40 min,滤过,加浓氨试液调至碱性,用乙醚振摇提取 3 次,每次 10 mL,合并乙醚液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,制成样品溶液。

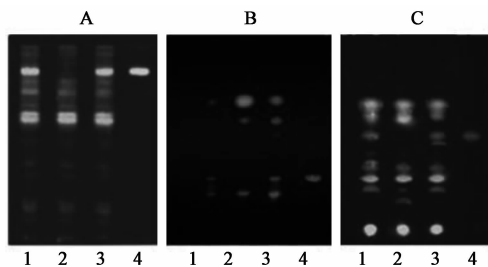
阴性样品溶液的制备:取按处方比例及制备工艺制得缺延胡索的舒胆通颗粒样品 1.0 g,按样品溶液制备法制成阴性样品溶液。

延胡索对照药材溶液的制备:取延胡索对照药材粉末 1.0 g,加甲醇 50 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 10 mL 使溶解,超声处理 40 min,滤过,加浓氨试液调至碱性,用乙醚振摇提取 3 次,每次 10 mL,合并乙醚液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,制成对照药材溶液。

延胡索乙素对照品溶液的制备:取延胡索乙素对照品 2.0 mg,加甲醇 5 mL 溶解,作为对照品溶液。

薄层层析:分别吸取上述溶液各 2 μL ,分别点于 1% 氢氧化钠溶液制备的硅胶 G 薄层板上,以甲苯-丙酮(9:2)为展开剂,展开,取出,晾干,置碘缸中约 3 min 后取出,挥尽板上吸附的碘后,置紫外光灯(365 nm)下检视。实验结果见图 1-C。

2.1.4 薄层定性鉴别结果 在薄层色谱中,样品溶液与相对应的对照药材溶液和对照品溶液,均显现相同颜色相同位置的主斑点。阴性对照品溶液无相应的主斑点,实验结果见图 1。



A. 栀子苷;B. 大黄酸;C. 延胡索乙素

1. 样品;2. 阴性样品;3. 对照药材;4. 对照品

图 1 栀子苷、大黄酸、延胡索乙素 TLC 图谱

2.2 舒胆通颗粒中栀子苷的含量测定

2.2.1 色谱条件^[4-5] Agilent ZORBAX C_{18} 色谱柱(4.6 mm \times 150 mm, 5 μm),检测波长 238 nm,流动相乙腈-水(15:85),流速 1 mL \cdot min⁻¹,柱温 30 $^{\circ}\text{C}$,理论塔板数按栀子苷色谱峰计算不低于 4 000,进样

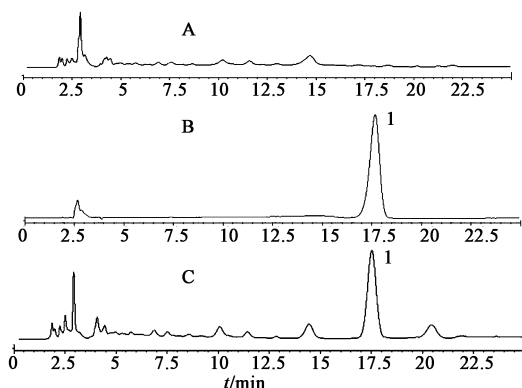
量 10 μL 。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取于 60 $^{\circ}\text{C}$ 干燥至恒重的栀子苷对照品适量,加甲醇制成 30 mg \cdot L⁻¹ 的溶液,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 取舒胆通颗粒样品 1.0 g,加 50% 甲醇 10 mL,超声处理 40 min,滤过。取 1 mL 置 100 mL 容量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,过 0.45 μm 膜后,即得。

2.2.4 阴性样品溶液的制备 取按处方比例及制备工艺制得缺栀子舒胆通颗粒样品 1.0 g,按 2.2.3 项下方法操作制成阴性样品溶液。

2.2.5 系统适应性试验 按 2.2.1 项下色谱条件,取对照品溶液 10 μL 和供试品溶液 20 μL 进样测定,理论塔板数按栀子苷色谱峰计算不低于 4 000,样品中栀子苷色谱峰与其他杂质色谱分离度 > 1.5,达到基线分离,无拖尾。阴性对照品对供试品测定无干扰。结果见图 2。



A. 阴性;B. 对照品;C. 供试品;1. 栀子苷

图 2 舒胆通颗粒 HPLC 色谱

2.2.6 线性关系考察 精密称取于 60 $^{\circ}\text{C}$ 干燥至恒重的栀子苷对照品 30.2 mg,置 100 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制成浓度为 0.302 g \cdot L⁻¹ 对照品储备液。精密量取 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL 分别置于 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,按 2.2.1 项下色谱条件,分别进样 10 μL ,记录色谱图,测定其峰面积值。结果以对照品相应的浓度为横坐标(X),对照品峰面积为纵坐标(Y),进行线性回归,得标准曲线方程 $Y = 15.687X - 2.0121$ ($r = 0.9999$)。结果表明,栀子苷在 15.1 ~ 151.0 mg \cdot L⁻¹,峰面积值与进样量呈良好的线性关系。当 S/N 为 3 时,栀子苷检测限为 0.23 mg \cdot L⁻¹;当 S/N 为 10 时,栀子苷定量限为 0.65 mg \cdot L⁻¹。

2.2.7 精密度试验 分别精密吸取 0.302 g \cdot L⁻¹ 对

照品储备液 10 μL ,按 2.2.1 项下色谱条件,重复进样 6 次,依次测定栀子苷峰面积值。结果栀子苷的峰面积 RSD 0.35%,表明仪器精密度良好。

2.2.8 重复性试验 取同一批舒胆通颗粒(批号 20060410),按 2.2.3 项下方法操作,平行制备 6 份供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件,每份供试品溶液进样 20 μL ,测定栀子苷峰面积值并计算含量。结果栀子苷平均含量为 24.1 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (RSD 0.42%),表明方法重复性良好。

2.2.9 稳定性试验 取同一批舒胆通颗粒(批号 20060410),按 2.2.3 项下方法操作,制备供试品溶液,分别于 0,2,4,6,8,12 h,按 2.2.3 项下色谱条件,分别进样 20 μL ,测定栀子苷峰面积 RSD。结果供试品中栀子苷含量的 RSD 0.61%,表明供试品溶液在 12 h 内保持稳定。

2.2.10 加样回收率试验 取已知含量的样品(批号 20060410,含量 24.1 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)适量,共 6 份,分别加入一定量栀子苷对照品储备液(0.302 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)8 mL,按样品分析方法进行处理,并各平行测定 2 次,见表 1。

表 1 栀子苷加样回收率

No.	称样量 /g	样品中 含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1	0.102	2.470	2.416	4.889	100.13		
2	0.103	2.489	2.416	4.910	100.20		
3	0.102	2.468	2.416	4.895	100.48		
4	0.102	2.451	2.416	4.882	100.60	100.45	0.48
5	0.103	2.473	2.416	4.920	101.30		
6	0.102	2.461	2.416	4.875	99.95		

2.2.11 供试品中栀子苷含量测定 按 2.2.3 项下色谱条件,分别精密吸取对照品溶液 10 μL 、供试品溶液 20 μL 进样,记录色谱图。按峰面积值用外标法计算含量。结果见表 2。

表 2 供试品中栀子苷含量测定(n=3) %

样品批号	栀子苷	RSD
20060410	2.41	
20060412	2.46	1.09
20060414	2.42	

3 讨论

HPLC 是近年来中药材及中成药常用的定量分析方法^[6-10]。本实验采用 RP-HPLC 技术,测定的结果表明栀子苷峰面积值与进样量呈良好的线性关

系,显示该方法对方中栀子苷的含量测定适用,分离度高、峰型好,且阴性无干扰。该方法简便、准确、可靠,可作为本处方的含量测定方法。

TLC 法是中药鉴定的主要方法,是快速分离和定性分析的一种重要实验技术。《中华人民共和国药典》2010 年版对常用中药材及中成药中主要成分制订了薄层鉴别方法,文献中对中药材和处方中主要成分的薄层鉴别研究也多有记载。栀子苷,大黄酸和延胡索乙素为栀子,大黄和延胡索的主要活性成分,采用这 3 种成分作为对照品对栀子,大黄和延胡索这 3 味中药进行薄层鉴别,保证了实验结果的准确性。本实验结果表明,舒胆通颗粒处方中栀子、大黄与延胡索进行薄层色谱鉴别系统专属性强,色谱特征斑点清晰,分离良好,无拖尾现象,可用于舒胆通颗粒的定性鉴别标准。

[参考文献]

[1] 高学敏,赵廷模,张俊荣. 中药学[M]. 北京:中国中医药出版社,2007:156,232,313.

[2] 刘益华,李晶,林曼婷,等. 栀子有效成分栀子苷的现代研究进展[J]. 中国药学杂志,2012,47(6):406.

[3] 张海燕,邬伟魁,李芳,等. 栀子保肝利胆作用及其肝毒性研究[J]. 中国中药杂志,2011,36(19):2610.

[4] 贺建华,鲍芳,郑蕊,等. 舒郁颗粒的质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(2):34.

[5] 万军. 高效液相色谱法测定鼻渊舒颗粒中栀子苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(19):78.

[6] 高宝益,裴妙荣. 高效液相色谱法测定栀子组中栀子苷含量[J]. 世界中西医结合杂志,2010,5(3):212.

[7] 侯志坚,师永清. 双波长 HPLC 同时测定防风通圣丸中栀子苷和黄芩苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(24):80.

[8] 侯志飞,孙国祥. 栀子 HPLC 数字化指纹图谱相对定量方法研究[J]. 中成药,2009,31(3):329.

[9] 吕士杰,李妍,芦晓晶,等. HPLC 测定芩丹颗粒中黄芩苷、栀子苷和丹皮酚[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(6):81.

[10] 张培琴,苏松柏,张建玲. HPLC 测定清金化痰汤中黄芩苷和栀子苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(15):69.

[责任编辑 顾雪竹]