

# 乳康胶囊质量标准研究

叶延程, 赵良存\*

(甘肃省武威肿瘤医院, 甘肃 武威 733000)

**[摘要]** 目的: 建立乳康胶囊的质量控制方法。方法: 对乳康胶囊中青皮、柴胡进行薄层色谱鉴别; 采用 HPLC 对柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 进行总含量测定。结果: 薄层色谱斑点清晰, 阴性对照无干扰; 柴胡皂苷 a 进样量在 2.04 ~ 14.28  $\mu\text{g}$  ( $r = 0.9998$ )、柴胡皂苷 d 进样量在 2.52-17.64  $\mu\text{g}$  ( $r = 0.9995$ ) 线性关系良好。平均回收率为 99.15%, RSD 0.54% ( $n = 9$ )。结论: 建立的 TLC 和 HPLC 专属性强、准确度高、重复性好, 可用于乳康胶囊的质量控制。

**[关键词]** 乳康胶囊; 质量标准; 高效液相色谱法; 柴胡皂苷 a; 柴胡皂苷 d

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)13-0125-04

## Quality Standard of Rukang Capsule

YE Yan-cheng, ZHAO Liang-cun\*

(Department of Pharmacy, Gansu Wuwei Tumor Hospital, Wuwei 733000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To established the method for quality control of Rukang capsule. **Method:** Citri Reticulatae Pericarpium viride, Bupleuri Radix in Rukang capsule were identified by TLC. The content of saikosaponin a and Saikosaponin d in Rukang Capsule was determined by HPLC. **Result:** The spots on the TLC plate were clear and the negative control sample didn't disturb. A good linearity was obtained for saikosaponin a in the range of 2.04-14.28  $\mu\text{g}$  ( $r = 0.9998$ ) and saikosaponin d in the range of 2.52-17.64  $\mu\text{g}$  ( $r = 0.9995$ ). The average recovery was 99.15% (RSD 0.54%,  $n = 9$ ). **Conclusion:** The method are specific, accurate and reproducible, and can be used for quality control of Rukang capsule.

**[Key words]** Rukang capsule; quality standard; HPLC; saikosaponin a; saikosaponin d

乳康胶囊处方由柴胡、青皮、郁金、三棱、莪术、香附、海藻、王不留行等 12 味组成, 具有疏肝解郁、软坚散结、活血破瘀、理气止痛的功能, 为了有效的控制制剂质量, 本文采用薄层色谱法对本制剂中青皮、柴胡进行了定性分析, 通过 HPLC 法对柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 进行总含量测定。

### 1 仪器与试剂

SSIPC2000 型单泵高效液相色谱仪, 紫外检测器, N-2000 工作站, (天津市兰博实验仪器设备有限公司), TG328B 型分析天平 (上海天平仪器厂), 三用紫外线分析仪 (上海顾村电光仪器厂), HS3120

型超声波清洗器 (天津市兰博实验仪器设备有限公司)。

柴胡对照药材 (批号 120992-200605), 陈皮苷对照品 (批号 110721-200512), 柴胡皂苷 a (批号 110777-200406, 供含量测定用), 柴胡皂苷 d 对照品 (批号 110777-200505, 供含量测定用) 均由中国药品生物制品检定所提供。乳康胶囊 (甘肃省武威肿瘤医院制剂室, 批号 20110815, 20110402, 20110112, 20101007, 20101105), 阴性对照样品自制, 所用药材均符合《中国药典》2010 年版一部有关要求, 硅胶 G 薄层板 (青岛胜海化工有限公司), 乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

#### 2.1 薄层色谱鉴别

**2.1.1 青皮的鉴别**<sup>[1]</sup> 取本品内容物及阴性对照样品各 5 g, 加甲醇 20 mL, 超声处理 20 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 1 mL, 作为供试品溶液及阴

**[收稿日期]** 20111222(011)

**[基金项目]** 叶延程, 博士, 主任药师, 从事临床药学及中药制剂研究, Tel: 0935-2268000

**[通讯作者]** \* 赵良存, 副主任药师, 从事临床药学及中药制剂研究, Tel: 0935-2267942

性对照溶液。另取陈皮苷对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VIB)试验,吸取上述 3 种溶液各 10  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-水(32:17:5)10  $^{\circ}$ C 以下放置 12 h 的下层溶液为展开剂,展至约 10cm,取出,晾干,喷以三氯化铝试液,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,阴性对照色谱无干扰。

**2.1.2 柴胡的鉴别** 取本品内容物及阴性对照样品各 5 g,加乙醚 20 mL,振摇提取,滤过,弃去乙醚液,残渣加水 20 mL,加热回流 20 min,滤过,用水饱和的正丁醇提取 3 次,每次 10 mL,合并正丁醇液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液及阴性对照溶液。另取柴胡对照药材 1.5 g,加水 20 mL,加热回流 20 min,滤过,滤液自“用水饱和的正丁醇提取 3 次”起同法制成对照药材溶液。再取柴胡皂苷 a 对照品、柴胡皂苷 d 对照品,加甲醇制成每 1 mL 各含 0.5 mg 的混合溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VIB)试验,吸取上述 4 种溶液各 10  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-甲醇-水(8:1:0.5)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 100  $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照药材色谱及对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点;阴性对照色谱无干扰。

## 2.2 柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 含量测定<sup>[2-3]</sup>

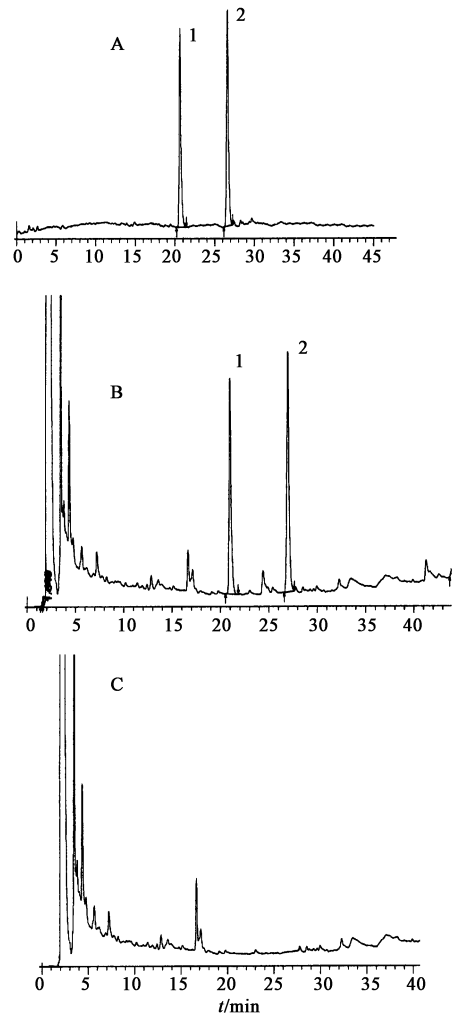
**2.2.1 色谱条件** 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu$ m),流动相乙腈-水(30:70),流速 1.0 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>,柱温室温,检测波长 210 nm。

**2.2.2 对照品溶液的制备** 取柴胡皂苷 a 对照品、柴胡皂苷 d 对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含柴胡皂苷 a 0.420 5 mg、柴胡皂苷 d 0.498 5 mg 的溶液,摇匀,即得。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 取本品 10 粒,取内容物,研细,取约 4.5 g,精密称定,置索氏提取器中,加乙醚适量,加热回流提取至提取液无色,弃去乙醚液,残渣挥干,置具塞锥形瓶中,加入含 5% 浓氨试液的甲醇溶液 25 mL,密塞,30  $^{\circ}$ C 水温超声处理(功率 120 W,频率 40 kHz)30 min,滤过,用甲醇 25 mL 分 2 次洗涤滤器及药渣,洗液与滤液合并,回收溶剂至干。残渣加甲醇溶解,转移至 5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

**2.2.4 阴性样品溶液的制备** 取处方中柴胡以外的其他药材,按乳康胶囊处方和制法制备不含柴胡的阴性样品。称取阴性样品约 4.5 g,按 2.2.3 项下方法操作制得阴性样品溶液。

**2.2.5 系统适用性试验** 分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性样品溶液各 20  $\mu$ L,照 2.2.1 色谱条件,注入液相色谱仪,测定,理论板数按柴胡皂苷 a 峰计算不低于 10 000,柴胡皂苷 a 保留时间约 20 min,柴胡皂苷 d 保留时间约 26 min,表明在此色谱条件下柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 与其他成分有很好的分离度,所得色谱图见图 1。



1. 柴胡皂苷; 2. 柴胡皂苷 d; A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性样品

图 1 高效液相色谱

**2.2.6 线性关系考察** 精密称取柴胡皂苷 a 20.4 mg、柴胡皂苷 d 对照品 25.2 mg,置 20 mL 量瓶中,加甲醇溶解,并稀释至刻度,摇匀,备用。精密吸取上述对照品溶液 1.0, 2.0, 3.0, 5.0, 7 mL,分别置 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,在上述色谱条件下各进样 20  $\mu$ L,测定峰面积,以峰面积为纵坐

标,进样量( $\mu\text{g}$ )为横坐标,绘制标准曲线,得柴胡皂苷 a 回归方程  $Y = 366\ 575X + 73\ 126$  ( $r = 0.999\ 8$ );柴胡皂苷 d 回归方程  $Y = 347\ 303X + 52\ 528$  ( $r = 0.999\ 5$ )。结果表明,柴胡皂苷 a 进样量在  $2.04 \sim 14.28\ \mu\text{g}$ 、柴胡皂苷 d 进样量在  $2.52 \sim 17.64\ \mu\text{g}$  均呈良好线性关系。

**2.2.7 精密密度试验** 精密吸取 2.2.2 项对照品溶液  $20\ \mu\text{L}$ ,重复进样 6 次,柴胡皂苷 a 峰面积平均值为  $3\ 094\ 786$ ,RSD  $1.31\%$  ( $n = 6$ );柴胡皂苷 d 峰面积平均值  $3\ 402\ 512$ ,RSD  $1.05\%$ 。结果表明,该方法精密密度良好。

**2.2.8 稳定性试验** 取乳康胶囊样品(批号 20110805)制成供试品溶液,分别于 0,2,4,8,24 h 各进样 1 次,每次  $20\ \mu\text{L}$ 。柴胡皂苷 a 峰面积平均值为  $4\ 871\ 187$ ,RSD  $1.16\%$  ( $n = 5$ );柴胡皂苷 d 峰面积平均值  $5\ 793\ 931$ ,RSD  $0.82\%$  ( $n = 5$ ),结果表明,供试品溶液在 24 h 内性质稳定。

**2.2.9 重复性试验** 将同一批乳康胶囊样品(产品批号 20110805)平行取样 6 份,按 2.2.3 项下操作制备供试品溶液 6 份,每份每次进样  $20\ \mu\text{L}$ ,测得样品柴胡皂苷 a 平均含量为  $0.326\ 1\ \text{mg/粒}$ ,RSD  $0.89\%$  ( $n = 6$ );测得样品柴胡皂苷 d 平均含量为  $0.413\ 1\ \text{mg/粒}$ ,RSD  $0.84\%$  ( $n = 6$ ),柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 总量  $0.739\ 2\ \text{mg/粒}$ ;结果表明本法重复性良好。

**2.2.10 加样回收率试验** 精密称取乳康胶囊内容物(柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 含量为  $0.739\ 2\ \text{mg/粒}$ ,批号 20110805)9 份,分为 3 组,置具塞锥形瓶中,每份分别加柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 对照品溶液(柴胡皂苷 a  $0.378\ 5\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、柴胡皂苷 d  $0.448\ 6\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )  $4,5,6\ \text{mL}$ ,按 2.2.3 项下操作制备供试品溶液。分别各进样  $20\ \mu\text{L}$ ,测定,记录色谱图,计算回收率,结果见表 1。

**2.2.11 样品含量测定** 对 5 批样品进行含量测定,每批重复 2 次,结果见表 2。

### 3 讨论

青皮的薄层定性鉴别分离度好,专属性强。柴胡药材薄层定性鉴别参照文献<sup>[4]</sup>,展开剂分别选用乙酸乙酯-甲醇-水(8:2:1),乙酸乙酯-甲醇-水(8:1:0.5)进行试验,结果柴胡展开剂为乙酸乙酯-甲醇-水(8:1:0.5)时柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 能较好的分离。

柴胡为本制剂处方中的主要药味,其主要有效成分为柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d,测定其含量对控制

表 1 乳康胶囊中 2 成分加样回收率试验( $n = 9$ )

No	样品量 /g	样品中原柴	加入柴胡	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
		胡皂苷 a、 柴胡皂苷 d 量/mg	皂苷 a、 柴胡皂苷 d 的量/mg				
1	2.503 2	4.111 9	3.308 4	7.382 3	98.85		
2	2.510 2	4.123 4	3.308 4	7.405 7	99.21		
3	2.396 8	3.937 2	3.308 4	7.195 0	98.47		
4	2.410 8	3.960 2	4.135 5	8.031 6	98.45		
5	2.493 5	4.096 0	4.135 5	8.217 1	99.65	99.15	0.54
6	2.498 7	4.104 6	4.135 5	8.234 3	99.86		
7	2.520 1	4.139 7	4.962 6	9.040 2	98.75		
8	2.598 4	4.268 3	4.962 6	9.203 6	99.45		
9	2.504 2	4.113 6	4.962 6	9.057 8	99.63		

注:样品批号 20110805,柴胡皂苷 a 含量为  $0.326\ 1\ \text{mg/粒}$ ,柴胡皂苷 d  $0.413\ 1\ \text{mg/粒}$ ,每粒装量  $0.45\ \text{g}$ 。

表 2 样品柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 含量测定  $\text{mg/粒}$

批号	柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 总含量	平均含量
20110402	0.446 8	
20110805	0.739 2	
20110112	0.684 2	0.597 8
20101007	0.520 8	
20101105	0.255 8	

产品质量有重要意义。试验中分别采用不同比例的乙腈-水进行试验,并记录了 200,208,210,215 nm 等不同波长的色谱峰,结果采用乙腈-水(30:70),流速为  $1.0\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ,检测波长为 210 nm 条件为佳,在此条件下柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 含量测定方法比较理想,阴性样品对测定无干扰,试验方法简便,结果准确,重复性好,可有效控制本品质量。

文献报道<sup>[5]</sup>,不同产地柴胡中柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 含量差异较大,对此我们对不同产地、批次的柴胡在投料生产过程中进行追踪并计算了 5 批样品的柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 转移率,柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 转移率最低为  $85.45\%$ ,5 批样品中所用柴胡药材产地不同,故 5 批制剂测定结果相差较大,含量最低的一批制剂柴胡药材产地为甘肃,5 批制剂中柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 的含量在  $0.255\ 8 \sim 0.739\ 2\ \text{mg/粒}$ ,按《中国药典》2010 年版一部规定柴胡药材中柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 含量不得少于  $0.3\%$ <sup>[6]</sup>,根据其处方量及制法,按《中国药典》最低限量及柴

# RP-HPLC 测定三黄片中黄芩苷和盐酸小檗碱的含量

王西彬<sup>1</sup>, 陈畅<sup>2</sup>, 何希荣<sup>2</sup>, 杨菲<sup>3,4</sup>, 冯伟红<sup>2,3\*</sup>

(1. 河南省中医院, 郑州 450002; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700;  
3. 中药质量控制技术国家工程实验室, 北京 100700; 4. 天津中医药大学, 天津 300193)

**[摘要]** 目的: 建立用 RP-HPLC 法同时测定三黄片中黄芩苷和盐酸小檗碱含量的方法。方法: 采用 Accurasil® C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 以乙腈-0.2% 磷酸水溶液(25:75)为流动相, 检测波长为 270 nm。结果: 黄芩苷和盐酸小檗碱的线性范围分别为 0.043 6~0.436 μg 和 0.018 5~0.185 μg, 回归方程分别为  $Y = 2.79 \times 10^6 X - 15\ 622$  ( $r = 0.999\ 9$ ) 和  $Y = 3.98 \times 10^6 X - 7\ 512$  ( $r = 0.999\ 9$ ) 加样回收率分别为 105.0%, 103.0%; RSD 分别为 1.28%, 1.80%。结论: 本法简便, 结果准确。

**[关键词]** 反相高效液相色谱法; 三黄片; 黄芩苷; 盐酸小檗碱

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)13-0128-03

## Determination of Contents of Bacalin and Berberin Hydrochloride in Sanhuang Tablets by RP-HPLC

WANG Xi-bin<sup>1</sup>, CHEN Chang<sup>2</sup>, HE Xi-rong<sup>2</sup>, YANG Fei<sup>3,4</sup>, FENG Wei-hong<sup>2,3\*</sup>

(1. Henan Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450002, China;  
2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;  
3. National Engineering Laboratory for Quality Control Technology of Chinese Herbal Medicines, Beijing 100700, China; 4. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish an RP-HPLC method for determination of bacalin and berberin hydrochloride in Sanhuang tablets. **Method:** The separation was performed on an Accurasil C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column eluted with a mobile phase consisted of acetonitrile-0.2% phosphoric acid solution (25:75)

**[收稿日期]** 20120217(170)

**[第一作者]** 王西彬, 主治医师, Tel: 13783522727, E-mail: wangxibin1976@163.com

**[通讯作者]** \* 冯伟红, 副研究员, 本科, 从事中药质量标准研究, Tel: 010-84014128, E-mail: weihong\_bj@126.com

胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 转移率计下幅 20%, 同时考虑各种因素的影响, 保证正常工艺条件下的制剂质量合格, 故将乳康胶囊中含柴胡以柴胡皂苷 a (C<sub>12</sub>H<sub>68</sub>O<sub>13</sub>)、柴胡皂苷 d (C<sub>12</sub>H<sub>68</sub>O<sub>13</sub>) 计, 总量不得少于 0.22 mg/粒。

### [参考文献]

- [1] 李本淳, 付梅. 采用薄层色谱法控制散结消肿胶囊的质量[J]. 中国实用医药, 2010, 5(6): 140.
- [2] 王鹏, 王玉生, 刘斌. 不同产地柴胡中总皂苷及柴胡皂苷 a 含量测定[J]. 中国药物与临床, 2008, 8(3): 228.

- [3] 谭玲玲, 蔡霞, 胡正海. 不同产地狭叶柴胡中柴胡皂苷含量的测定[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(10): 2431.
- [4] 赖克道, 刘元, 文志云, 等. 薄层色谱法定性鉴别小柴胡颗粒中的柴胡、甘草[J]. 广西医学, 2009, 31(6): 886.
- [5] 白雪梅, 田嘉铭, 王德宝. HPLC 测定不同产地柴胡中柴胡皂苷 a 及柴胡皂苷 d 的含量[J]. 中成药, 2006, 28(3): 440.
- [6] 中国药典. 一部[S]. 2010: 264.

[责任编辑 顾雪竹]