

健脾康儿片的质量控制研究

李芳¹, 聂会生¹, 王卫锋¹, 石敏娟¹, 杜升旗²

(1. 陕西省中医药研究院, 西安 710003; 2. 西安仁仁药业有限公司, 西安 710075)

[摘要] **目的:** 进行健脾康儿片的质量控制研究。**方法:** 采用反相高效液相色谱法对健脾康儿片中主要成分盐酸小檗碱进行定量分析; 同时对制剂中的主要药味人参、黄连、陈皮进行薄层鉴别。**结果:** 用高效液相色谱法测定盐酸小檗碱的含量, 在 0.054 ~ 0.648 μg , 盐酸小檗碱峰面积值与进样量有良好的线性关系 ($r = 0.999\ 6$)。平均加样回收率 97.5%, RSD 1.51% ($n = 6$), 薄层图谱斑点清晰, 阴性对照无干扰。**结论:** 方法简便, 重复性好, 可有效控制制剂的质量。

[关键词] 健脾康儿片; 质量标准; 盐酸小檗碱; 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(2011)19-0111-04

Studies on Quality Control of Jianpi Kang'er Tablets

LI Fang¹, NIE Hui-sheng¹, WANG Wei-feng¹, SHI Min-juan¹, DU Sheng-qi²

(1. Shaanxi Provincial Academy of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710003, China

2. Xi'an RENREN Pharmaceutical Co., LTD, Xi'an 710075, China)

[Abstract] **Objective:** To study the quality control of Jianpi Kang'er tablets. **Method:** The content of main component, berberine hydrochloride was determined by HPLC method. *Panax ginseng*, *Rhizoma Coptidis*, *Pericarpium Citri Reticulatae* were identified by TLC. **Result:** The negative comparison displayed no disturbance. The linearity of the method founded was within the range of 0.054-0.648 μg ($r = 0.999\ 6$). The average recovery rate was 97.5% and RSD was 1.51% ($n = 6$). **Conclusion:** The method was available for quality control of Jianpi Kang'er tablets.

[Key words] Jianpi Kang'er tablets; quality standard; berberine hydrochloride; HPLC

健脾康儿片制剂标准收载于中华人民共和国卫生部药品标准《中药成方制剂》第三册^[1]。本方具有健脾养胃, 消食止泻之功效, 用于脾虚胃肠不和, 饮食不节引起的腹胀便泻、面黄肌瘦、食少倦怠、小便短少。原质量标准只有理化鉴别, 专属性较差, 无含量测定方法。为了更好地控制该制剂的质量, 参照有关文献^[2-6], 本实验采用了 TLC 对制剂中的人参、黄连、陈皮进行了定性鉴别, 采用 RP-HPLC 对制剂中黄连的主要有效成分盐酸小檗碱进行了含量测定。

1 材料

KQ-2500 型超声清洗仪 (昆山检测仪器厂), UV-8 型三用紫外分析仪 (无锡科达仪器厂), 939 薄层制板器 (重庆市南岸贝尔德仪器技术厂), 101A-2 型干燥器 (上海实验仪器总厂), FA2004 型电子天平 (上海天平仪器厂), BP211D 型电子天平 (德国塞多利斯), SSI 高效液相色谱仪 (美国 SSI 公司), SSI P4000 泵, SSI 500 UV-Vis 检测器, 10 μL 定量环, HW-2000 色谱工作站 (千谱软件有限公司), Phenomenex C₁₈ (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm) 色谱柱, TU-1810 型紫外-可见分光光度计 (北京普析通用仪器有限责任公司)。

盐酸小檗碱 (批号 110713-200208), 人参皂苷 Rb₁ (批号 110704-200420), 人参皂苷 Re (批号 110754-200421), 人参皂苷 Rg₁ (批号 110703-200425), 盐酸巴马汀 (批号 110732-200506), 橙皮

[收稿日期] 20110413(006)

[第一作者] 李芳, 高级工程师, 从事中药学研究, Tel: 029-87251832, E-mail: amelia@126.com

昔对照品(批号 110721-200512)均购自中国药品生物制品检定所。健脾康儿片(自制,批号 090501, 090502, 090503)。

硅胶 G(薄层层析用,化学纯)购自青岛海洋化工厂,色谱用水均为超纯水,由 D7428 型超纯水仪(Barnstead 产品)制备,乙腈为 HPLC 级试剂(美国 TEDIA 公司),其他试剂均为分析纯(西安化学试剂厂)。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

2.1.1 人参的薄层鉴别 取本品 15 片,除去薄膜衣,研细,加三氯甲烷 40 mL,加热回流 1 h,滤过,弃去三氯甲烷液,药渣挥干溶剂,加甲醇 20 mL,加热回流 1 h,滤过,甲醇液置水浴上蒸干,残渣加水 20 mL 使溶解,用水饱和的正丁醇提取 2 次,每次 20 mL,合并正丁醇液,加氨试液洗涤 2 次,每次 20 mL,再加正丁醇饱和的水洗涤 2 次,每次 10 mL,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。同时,按本品的制备工艺,制得不含人参的制剂,同供试品溶液的处理方法,制成人参的阴性对照溶液。另取人参皂苷 Rb₁, Re, Rg₁, 用甲醇制成每 1 mL 各含 2 mg 的混合溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 VI B)试验,吸取供试品溶液 10 μL,对照品溶液各 5 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-水(65:35:10)10℃以下放置的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 105℃ 烘数分钟,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显 3 个相同的紫红色斑点,且阴性对照无干扰。

2.1.2 黄连的薄层鉴别 取本品 5 片,除去薄膜衣,研细,加乙醇 10 mL,振摇后静置 2 h,滤过,滤液浓缩至 2 mL,作为供试品溶液。同时,按本品的制备工艺,制得不含黄连的制剂,同供试品溶液的处理方法,制成黄连的阴性对照溶液。另取盐酸小檗碱与盐酸巴马汀对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的混合液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 VI B)试验,吸取上述两种溶液各 10 μL,分别点于同一以羧甲基纤维素钠溶液为黏合剂的硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-丁酮-甲酸-水(10:1:1:1)为展开剂,展开,取出,晾干,在紫外光灯(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,且阴性对照无干扰。

2.1.3 陈皮的薄层鉴别 取本品 5 片,除去薄膜衣,研细,加甲醇 20 mL,超声处理 40 min,滤过,滤液蒸干,加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。同时,按本品的制备工艺,制得不含陈皮的制剂,同供试品溶液的处理方法,制成陈皮的阴性对照溶液。另取橙皮苷对照品,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》2005 年版一部附录 VI B)试验,吸取上述 2 种溶液各 2 μL,分别点于同一用 1% 氢氧化钠溶液制备的硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-甲醇-水(100:17:13)为展开剂,展开,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,且阴性对照无干扰。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件 Phenomenex C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相 乙腈-0.2% 磷酸(23:77);检测波长 345 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温为 25℃,进样量 10 μL。理论板数按盐酸小檗碱峰计算不低于 2 000。

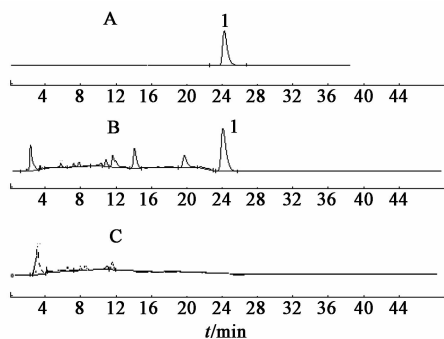
2.2.2 对照品溶液的制备 取盐酸小檗碱对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含 0.01 mg 的溶液,作为对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品 10 片,除去薄膜衣,研细,取约 0.3 g,精密称定,精密加盐酸-甲醇(1:100)混合溶液 50 mL,密塞,称定质量,超声处理(功率 250 W,频率 40 kHz)30 min,冷至室温,再称定质量,用盐酸-甲醇溶液(1:100)混合溶液补足减失的质量,滤过,精密量取续滤液 5 mL,通过已处理好的中性氧化铝柱(120 目,5 g,内径 1 cm),用甲醇 100 mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加甲醇使溶解,并移至 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,作为供试品溶液。

2.2.4 阴性对照品溶液的制备 取缺黄连的阴性对照样品,同供试品溶液的制备方法,制备成阴性对照溶液。

2.2.5 干扰试验 照 2.2.1 项下色谱条件,吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 10 μL,分别依次进样。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,有色谱峰出现,而阴性对照液在盐酸小檗碱色

谱峰位置处无相应峰出现,表明阴性无干扰(图1)。



A. 对照品; B. 供试品;

C. 阴性对照品; 1. 盐酸小檗碱

图1 盐酸小檗碱对照品及样品色谱

2.2.6 线性关系考察 取盐酸小檗碱对照品溶液($0.108\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$),用甲醇配制成质量浓度为 $0.005\ 4$, $0.010\ 8$, $0.021\ 6$, $0.043\ 2$, $0.064\ 8\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的对照品溶液,进样,记录色谱图,测定峰面积。以峰面积(Y)对进样量(X)进行回归,得标准曲线方程 $Y = 4\ 656\ 694X + 48\ 008$ ($r = 0.999\ 6$)。表明盐酸小檗碱在 $0.054 \sim 0.648\ \mu\text{g}$ 峰面积值与进样量(μg)有良好

的线性关系。

2.2.7 精密度试验 精密吸取供试品溶液(批号090501),重复进样6次,每次 $10\ \mu\text{L}$,按2.2.1项下色谱条件进样,记录盐酸小檗碱峰面积积分值,RSD 0.25% ($n = 6$)。

2.2.8 稳定性试验 取同一供试液(批号090501),分别在 $0, 2, 4, 6, 8\ \text{h}$ 进样,测得样品中盐酸小檗碱峰面积值,结果RSD 0.62% ,说明溶液中盐酸小檗碱在 $8\ \text{h}$ 内较稳定。

2.2.9 重复性试验 按拟定的含量测定方法,以同一批样品(批号090501)分别制备6份供试品溶液,测得峰面积,计算含量。盐酸小檗碱含量($\text{mg}/\text{片}$)依次为 $1.221, 1.176, 1.234, 1.213, 1.208, 1.193, 1.208$ ($\text{mg}/\text{片}$),RSD 1.70% ($n = 6$)。

2.2.10 加样回收试验 取已知含量的样品(盐酸小檗碱含量 $1.208\ \text{mg}/\text{片}$)6份,每份 $0.15\ \text{g}$,精密称定,分别加入浓度为 $0.135\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的盐酸小檗碱对照品溶液 $5\ \text{mL}$,按2.2.3项下操作,依法制备,进样,测定峰面积,计算回收率,见表1。

表1 健脾康中盐酸小檗碱加样回收率试验

No.	取样量/g	样品中量 /mg	加入量/mg	测得总量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD/%
1	0.143 1	0.576	0.675	1.231	97.0		
2	0.154 7	0.623	0.675	1.294	99.4		
3	0.141 9	0.571	0.675	1.226	97.0		
4	0.147 6	0.594	0.675	1.260	98.7	97.5	1.51
5	0.137 3	0.553	0.675	1.213	97.8		
6	0.144 6	0.582	0.675	1.225	95.2		

2.2.11 含量测定 取健脾康儿片3批样品,按2.2.3项下操作制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件,依法测定,结果见表3。

表2 健脾康儿片中盐酸小檗碱的含量测定($n = 3$)

批号	盐酸小檗碱含量/($\text{mg}/\text{片}$)	RSD/%
090501	1.21	1.25
090502	1.19	1.91
090503	1.22	1.64

3 讨论

黄连是本制剂中的主要药材之一,盐酸小檗碱是黄连的主要活性成分,具有抗菌、抗病毒、抗心律失常、抗肿瘤等药理作用^[7],为本制剂的主要有效成分之一,因此选择盐酸小檗碱作为含量测定指标成

分较为合理,以达到控制制剂质量,保证临床疗效的目的。

人参的薄层色谱研究中,供试品溶液按2.1.1项下方法制备,在紫外光灯($365\ \text{nm}$)下检视,因健脾康儿片含有黄连,其制剂以药材原粉加入,其在紫外光灯($365\ \text{nm}$)下荧光较强,故对人参皂苷 Rb_1 , Re , Rg_1 的干扰较大,本试验曾用多种方法除去其干扰,均未成功,故未将紫外光灯($365\ \text{nm}$)下检视结果列入标准控制中。

提取盐酸小檗碱时曾选用超声提取法、回流提取法,超声和回流提取含量差异不大,但超声提取简单、易行,故选用超声提取法。对超声提取的溶剂进行了考察,比较了盐酸-甲醇($1:100$)及甲醇的差异,

超临界 CO₂ 萃取桂郁金挥发油的化学成分

刘雪梅, 杨秀芬*, 刘耀泉, 朱小勇, 李耀华, 莫传丽
(广西中医学院药学院, 南宁 530001)

[摘要] 目的: 研究桂郁金挥发油的化学成分, 为其质量控制提供理论依据。方法: 采用超临界 CO₂ 法对桂郁金进行挥发油的萃取, 并利用气相-质谱联用法 (GC-MS) 对其组分进行分析鉴定。结果: 共鉴定出 23 个化合物, 占挥发油总量的 96.83%。结论: 桂郁金挥发油主要化学成分是反式-对甲氧基肉桂酸乙酯 (55.29%)、3,4-二甲氧基肉桂酸 (8.57%)、茴香脑 (6.29%)、肉桂酸乙酯 (5.23%)。

[关键词] 桂郁金; 挥发油; 超临界 CO₂ 萃取; 气相色谱-质谱联用

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)19-0114-03

Study of Chemical Constituents of Volatile Oil from *Curcuma kwangsiensis* by Supercritical CO₂ Extraction

LIU Xue-mei, YANG Xiu-fen*, LIU Yao-quan, ZHU Xiao-yong, LI Yao-hua, MO Chuan-li
(Faculty of Pharmacy, Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China)

[Abstract] **Objective:** To study the chemical constituents of volatile oils from *Curcuma kwangsiensis* to provide the theoretical evidence for controlling its quality. **Method:** The volatile oils were extracted by supercritical

[收稿日期] 20110303(008)

[基金项目] 广西科学基金项目(桂科基 0832006)

[第一作者] 刘雪梅, 硕士, 副教授, 研究方向: 中药新技术与剂型设计, Tel: 0771-3137585, E-mail: lenarecome@yahoo.com.cn

[通讯作者] * 杨秀芬, 博士, 教授, 研究方向: 中药心血管药理, Tel: 0771-2279423, E-mail: xiufenyang@163.com

结果表明, 盐酸-甲醇(1:100)所提取的供试品溶液, 含量较高, 为保证盐酸小檗碱的充分提出, 故采用盐酸-甲醇(1:100)为样品的提取溶剂。对超声提取的时间也进行了考察, 超声提取 30 min 以后, 样品中盐酸小檗碱的含量趋于稳定, 为节省时间, 节约能源, 所以确定超声提取时间为 30 min。

本文曾对供试品溶液的制备中的纯化方法进行了选择, 未通过中性氧化铝柱所制备的供试品溶液, 杂质较多, 未达到基线分离, 故选择供试品溶液制备时, 通过中性氧化铝柱。对洗脱液用量也进行了考察, 结果表明, 用甲醇 100 mL 可洗脱完全, 为节省时间, 节约能源, 所以确定洗脱剂用量为 100 mL。

0606-91.

- [2] 张蓓蕾, 夏醒醒, 陈勤. HPLC 法测定二妙丸中盐酸小檗碱的含量 [J]. 中成药, 2008, 30(1): 152.
- [3] 付小六. HPLC 法测定妇炎康片中盐酸小檗碱的含量 [J]. 中成药, 2007, 29(2): 298.
- [4] 冷桂花. 和胃止痛片质量标准的研究 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19(3): 714.
- [5] 时维静, 李立顺, 陆凤琪, 等. 腹泻清颗粒的质量标准研究 [J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(2): 299.
- [6] 杨季菱, 李世林. 葛根芩连汤中盐酸小檗碱的含量考察 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(6): 29.
- [7] 赵立峰, 李明. 黄连素研究进展 [J]. 唐山学院学报, 2008, 21(6): 35.

[责任编辑 蔡仲德]

[参考文献]

- [1] 卫生部药品标准 中药成方制剂 [S]. 第 3 册. WS₃-