

芍石护睛胶囊质量标准研究

周滢¹, 曹佩雪², 梁光义², 段恒^{1*}

(1. 重庆医科大学, 重庆 400016; 2. 贵阳中医学院, 贵阳 550002)

[摘要] 目的: 建立芍石护睛胶囊的质量标准。方法: 采用薄层色谱(TLC)对芍石护睛胶囊中的白芍、决明子进行定性鉴别; 用高效液相法(HPLC)对制剂中的芍药苷的进行含量测定。色谱条件: 用 C₁₈ 分析柱, 以甲醇-水(27:73)为流动相, 检测波长 230 nm, 进样量 10 μL。结果: TLC 中, 供试品溶液色谱在与对照药材或对照品相应位置上出现相同颜色的斑点, 阴性对照无干扰; HPLC 中, 芍药苷在 0.074~0.741 μg 线性关系良好($r=0.999\ 95$), 平均回收率 100.7%, RSD 2.0% ($n=6$)。结论: TLC 呈现斑点清晰、特异性强, 可用于芍石护睛胶囊的鉴别; 芍药苷方法学研究简单、易行, 可用于芍石护睛胶囊的质量控制。

[关键词] 芍石护睛胶囊; 薄层色谱; 高效液相法; 芍药苷

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2011)03-0113-03

Studies on Quality Standard for Shaoshi Securing Capsule

ZHOU Ying¹, CAO Pei-xue², LIANG Guang-yi², DUAN Heng¹

(1. Chongqing Medical University; 2. Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China)

[Abstract] Objective: To establish the quality standard for Shaoshi Securing capsule. **Method:** *Paeonia lactiflora* and *Cassia tora* were identified by TLC. The content of paeoniflorin in Shaoshi Securing capsule was determined by HPLC. HPLC analytical method was carried out by using a C₁₈ column and a mixture of methanol-water (27:73) as the mobile phase. The detection wavelength was set at 230 nm. **Result:** Spots obtained from the test solutions had the same color in reference solution and medical material in the same location, and the blank solution had no interference. The calibration curve was linear in the range of 0.074-0.741 μg ($r=0.999\ 95$). The average recovery of sample was 100.7% with RSD of 2.0% ($n=6$). Precision of the analytical method was 1.1% ($n=6$). **Conclusion:** In TLC the spots were very clear and specific to identify the herbal medicine in Shaoshi Securing Capsule. HPLC method is simple, quick, high precise and accurate for the quality control of the capsules.

[Key words] Shaoshi Securing capsule; TLC; HPLC; paeoniflorin

芍石护睛胶囊为治疗干眼病的临床经验方, 是依据中医理论, 结合多年临床用药经验研制的, 并进行了相关药理学等多方面的研究, 是治疗干眼病疗效确切、服用安全的中药新制剂, 方中白芍为君药。石斛在《内经》谓其“补五脏虚劳羸瘦, 强阴”。强调其独到的滋补阴液作用。本品专功养阴生液, 故为臣药。决明子在《本草正义》认为“决明子明目, 乃

滋益肝肾, 以镇潜补阴为义, 是培本之正治”。本品既养阴明目, 又可清热润燥, 故为佐药。本试验采用 TLC 和 HPLC 建立鉴别和含量测定方法, 以期芍石护睛胶囊的质量控制提供试验方法。

1 材料

HP-1100 高效液相色谱仪(美国惠普公司); 芍药苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 0736-200219); 定量毛细管, 硅胶 G(青岛海洋化工厂)。甲醇(色谱纯), 水(重蒸水), 芍石护睛胶囊(自制, 批号 20060315), 其他试剂(分析纯)。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别 本品由白芍等组成, 全部药材经

[收稿日期] 20100227(002)

[基金项目] 贵州省科技攻关项目[黔科合农社字(2005)5005]

[第一作者] 周滢, 讲师, 在读博士, 从事临床中药新药开发研究, E-mail: meiren129129@163.com

水提取、醇沉精制而成。本研究建立了白芍、决明子的鉴别方法。而石斛等药材,经反复试验,均因成分的含量过低,未能得到很好的鉴别,故未列入质量标准研究正文。

2.1.1 白芍的鉴别 取本品内容物 0.2 g,加乙醇 10 mL 振摇 5 min,滤过,滤液蒸干,残渣加乙醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。取不含白芍的阴性制剂,同法制成阴性对照溶液。另取芍药苷对照品,加乙醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。照《中国药典》2005 年版一部薄层色谱法(附录 B) 试验,吸取上述 3 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,以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-乙酸(10 4 6 1) 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,置日光下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同的蓝紫色斑点,见图 1。

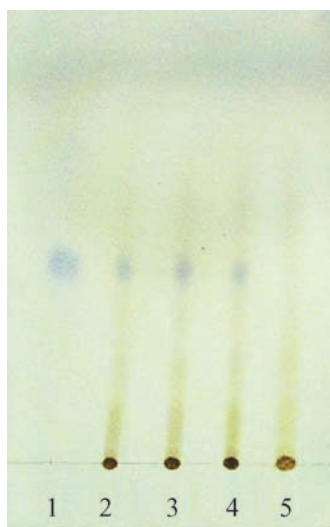


图 1 芍药苷对照品; 2-4. 供试品; 5. 缺白芍阴性对照

1. 芍药苷对照品; 2-4. 供试品; 5. 缺白芍阴性对照

2.1.2 决明子的鉴别 取本品内容物 0.2 g,加甲醇 10 mL 浸渍 1 h,滤过,滤液蒸干,残渣加水 10 mL 使溶解,再加盐酸 1 mL,置水浴上加热 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,作为供试品溶液。取不含决明子的阴性制剂,同法制成阴性对照溶液。另取大黄酚对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。照《中国药典》2005 年版一部薄层色谱法(附录 B) 试验,吸取上述 3 种溶液各 2 μ L,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 H 薄层板上,以石油醚(60 ~90)-乙酸乙酯-甲酸(20 2 1) 为展开剂,展开,取出,晾干,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,显相同的橙色荧光

斑点,见图 2。

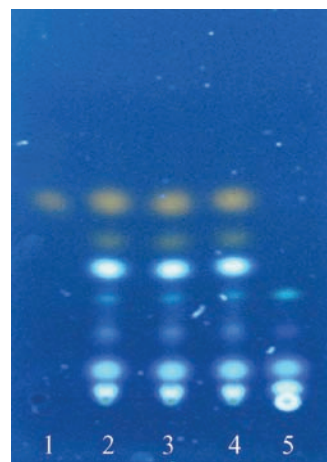


图 2 芍药苷对照品; 2-4. 供试品; 5. 缺决明子阴性对照

1. 大黄酚对照品; 2-4. 供试品; 5. 缺决明子阴性对照

2.2 定量分析^[1]

2.2.1 色谱条件 色谱柱: Hypersil C₁₈ (ID 4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m, 大连依利特科学仪器有限公司); 流动相 甲醇-水(23 73); 流速 1.0 mL \cdot min⁻¹; 柱温 30 ; 检测波长 230 nm。

2.2.2 溶液的制备 精密称取减压干燥至恒重的芍药苷对照品适量,用 80% 甲醇溶解配制得 0.148 4 g \cdot L⁻¹ 的溶液,作为对照品溶液。取样品内容物约 0.1 g,研细,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加入 80% 甲醇约 40 mL,超声处理 20 min,加 80% 甲醇至刻度,摇匀,用 0.45 μ m 滤膜滤过,得供试品溶液。取不含白芍的群药,按制备工艺制备阴性对照样品。取阴性对照样品适量,按供试品溶液的制备方法制备阴性对照液。

2.2.3 系统适应性试验 分别取芍药苷对照品溶液、供试品溶液、缺白芍阴性供试品溶液注入液相色谱仪,芍药苷的保留时间(t_R) 约为 11 min。本试验条件下,供试品溶液芍药苷峰与其他成分能达到基线分离,阴性供试品溶液在芍药苷出峰处无干扰。理论塔板数以芍药苷峰计,应不低于 5 000。见图 3。

2.2.4 线性关系 分别精密吸取对照品溶液 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 μ L,注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定芍药苷峰面积。以芍药苷峰面积积分为纵坐标(Y),芍药苷进样量为横坐标(X),得回归方程: $Y = 1354.10734X + 0.25894$, $r = 0.99995$,芍药苷在 0.074 05 ~0.740 5 μ g 线性关系良好。

2.2.5 精密度试验 精密吸取芍药苷对照品溶液(0.434 1 g \cdot L⁻¹),重复进样 5 次,每次 5 μ L,测定芍药苷峰面积, RSD 0.7%。

2.2.6 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 5 μ L,每隔 2 h 测定芍药苷峰面积。供试品溶液中芍

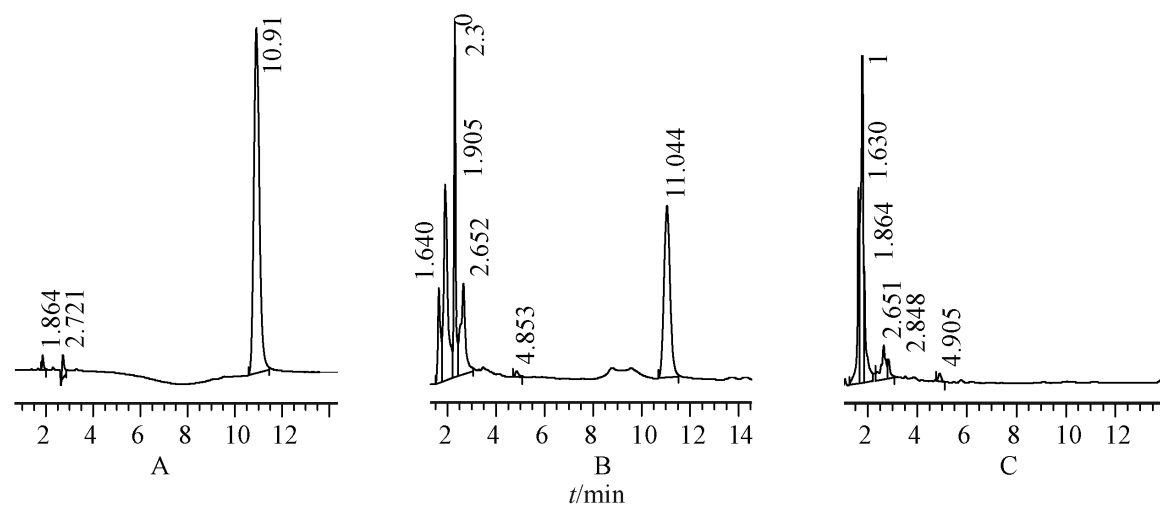


图3 芍药苷护睛胶囊 HPLC

A. 芍药苷对照品; B. 样品; C. 阴性样品

药苷在 8 h 内稳定性良好, RSD 1.5%,。

2.2.7 重复性试验 精密称取胶囊内容物 0.1 g, 按供试品溶液的制备方法平行制备 6 份供试品溶液, 同等色谱条件测定芍药苷峰面积, 平均质量分数 $37.76 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 1.3%。

2.2.8 加样回收率试验^[2] 取胶囊内容物(平均质量分数 $37.76 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) 约 0.05 g, 精密称定, 分别加入芍药苷对照品适量, 按供试品溶液的制备方法制备 6 份供试液, 分别进样, 测定芍药苷峰面积, 计算结果列入表 1, 芍药苷的平均回收率 100.7%, RSD 2.0%。

表 1 芍药苷护睛胶囊中芍药苷的加样回收率试验

No.	样品量 /g	样品中含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%
1	0.050 6	1.91	1.91	3.82	100.48
2	0.050 3	1.90	1.90	3.83	101.57
3	0.051 6	1.95	1.96	3.82	97.26
4	0.051 9	1.96	2.01	4.02	102.72
5	0.050 6	1.91	1.93	3.79	101.50
6	0.050 6	1.91	1.91	3.82	100.48

2.2.9 样品测定 取 3 批中试样品, 按供试品溶液的制备方法分别制备供试液, 测定出芍药苷

囊中芍药苷的平均质量分数 $16.87 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。暂定本品每 1 g 含芍药苷 ($\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$) 不得少于 14.1 mg。

3 讨论

《中国药典》2005 年版中芍药苷含量测定的流动相乙腈-1% 磷酸溶液(14 86) 较复杂, 不方便操作且影响色谱柱的使用寿命, 本研究以甲醇-水(27 73) 为流动相对芍药苷进行含量测定, 峰形好, 分离度 $R > 1.5$, 该流动相组成简单, 易操作且分离效果较好, 同时延长了色谱柱的使用寿命。

该制剂的芍药苷含量测定方法可靠, 线性关系良好, 精密度高, 稳定性好, 适用于该制剂的质量控制。本试验采用留样观察法预测有效期, 结果较准确, 为质量控制和临床用药提供了参考依据。

[参考文献]

- [1] 杨立芳, 宋方耆. 高效液相色谱法测定抗骨增生丸中淫羊藿苷的含量. 中国药房, 2006, 17(18): 1420.
- [2] 谷焕鹏, 胡升芳, 高明堂. 手性固定相在高效液相色谱中的应用研究进展. 中国药房, 2005, 16(18): 1421.
- [3] 谢秀琼. 中药新制剂开发与应用 [M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 315.

[责任编辑 全燕]