

石斛明目丸质量标准研究

李琰*, 傅欣彤

(北京市药品检验所, 北京 100035)

[摘要] 目的: 建立了石斛明目丸的薄层色谱鉴别与含量测定方法。方法: 修订了显微鉴别项, 增加了人参、黄连、川芎的薄层鉴别项, 并采用高效液相色谱法测定黄连中盐酸小檗碱的含量。结果: 薄层色谱斑点清晰, 重复性好, 盐酸小檗碱在 0.010 22 ~0.306 6 μg 线性关系良好。平均回收率为 97.71%, RSD 为 1.0%。结论: 本方法简便易行, 重复性好。

[关键词] 石斛明目丸; 薄层色谱; 高效液相色谱; 盐酸小檗碱

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)18-0065-03

石斛明目丸收载于《卫生部药品标准》中药成方制剂第七册, 原标准规定了显微鉴别项, 现对石斛明目丸的质量标准重新进行了提高、完善。在部颁标准的基础上, 增加了人参、黄连、川芎的薄层鉴别项, 并采用高效液相色谱法测定黄连中盐酸小檗碱的含量, 提高、完善了质量标准, 以更好的控制药品质量。

1 仪器与试药

岛津 LC-2010A VP 高效液相色谱仪。硅胶 G 薄层板(烟台化工研究所), 乙腈(色谱纯), 磷酸(色谱纯), 其他试剂均为分析纯。盐酸小檗碱对照品(供含量测定用, 批号 110713-200609, 105 干燥 5 h, 按含 $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{ClNO}_4$ 为 98.1% 计)。人参皂苷 Rb_1 对照品(批号 110704-200217)、人参皂苷 Rg_1 对照品(批号 110703-200323)、人参皂苷 Re 对照品(批号 110754-200320), 黄连对照药材(批号 120913-200407)、川芎对照药材(批号 120918-200406), 以上对照品及对照药材均购自中国药品生物制品检定所。试验样品由北京同仁堂股份有限公司提供, 批号为 5073654, 6070451, 6074295。

2 薄层色谱法定性鉴别

2.1 人参的薄层鉴别 取本品研碎, 称取 5 g, 加乙醚 50 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液备用, 药渣加甲醇 50 mL, 加热回流 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 20 mL 使溶解, 用水饱和的正丁醇振摇提取 3 次, 每次 20 mL, 合并正丁醇液, 用氨试液洗涤 2 次,

每次 40 mL, 弃去氨液, 正丁醇液蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取人参对照药材 1 g, 同法制成对照药材溶液。再取人参皂苷 Rb_1 , Rg_1 , Re 对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 各含 1 mg 的混合溶液, 作为对照品溶液。另取人参的空白制剂 5 g, 按供试品溶液的制备方法制备空白溶液, 照薄层色谱法试验, 吸取上述 4 种溶液各 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 加热至斑点显色清晰, 分别置日光及紫外光灯(365 nm)下检视。结果供试品色谱中, 在与对照药材和对照品色谱相应位置上, 分别显相同颜色的斑点斑点, 而空白溶液未显相同颜色的斑点斑点, 空白无干扰。

2.2 黄连的薄层鉴别 取本品研碎, 称取 2 g, 加甲醇 10 mL, 超声处理 10 min, 滤过, 滤液作为供试品溶液。另取黄连对照药材 0.5 g, 同法制成对照药材溶液。再取盐酸小檗碱对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液, 作为对照品溶液。另取黄连的空白制剂 2 g, 按供试品溶液的制备方法制备。照薄层色谱法试验, 吸取上述 4 种溶液各 1 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-乙酸乙酯-异丙醇-甲醇-水(6:3:1.5:1.5:0.3) 为展开剂, 置氨蒸气饱和的展开缸内, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365 nm)下检视。结果供试品溶液在与对照药材、对照品色谱相同的位置上显相同颜色的荧光斑点, 而空白溶液未显相同的荧光斑点, 空白无干扰。

2.3 川芎的薄层鉴别 取 2.1 项下的备用的乙醚液, 挥干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取川芎对照药材 1 g, 加乙醚 20 mL, 超声处

[收稿日期] 2010-06-03

[通讯作者] * 李琰, 主管药师, 研究方向: 中药质量标准研究,

Tel: 010-83221414; E-mail: derly212@163.com

理 30 min, 滤过, 药渣备用, 滤液挥干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为对照药材溶液。另取川芎的空白制剂 5 g, 按供试品溶液的制备方法制备。照薄层色谱法试验, 吸取供试品溶液与空白溶液各 10 μ L、对照药材溶液 5 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正己烷-乙酸乙酯(9:1)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, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点, 而空白溶液未显相同的斑点, 空白无干扰。

3 含量测定

3.1 色谱条件 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 以乙腈-0.1% 磷酸溶液(1:2) (每 100 mL 中含庚烷磺酸钠 0.1 g) 为流动相; 柱温 35 $^{\circ}$ C, 检测波长为 265 nm。理论板数按盐酸小檗碱峰计算应不低于 3 000。

3.2 对照品溶液的制备 精密称取 105 μ g 干燥 5 h 的盐酸小檗碱对照品 10 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加盐酸-甲醇(1:100) 适量使溶解, 并稀释至刻度, 摇匀; 精密量取 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加盐酸-甲醇(1:100) 至刻度, 摇匀, 即得(10 mg \cdot L $^{-1}$)。

3.3 供试品溶液的制备 取重量差异项下本品, 研细, 精密称取 0.2 g, 置具塞锥形瓶中, 加盐酸-甲醇(1:100) 25 mL, 加热回流 30 min, 放冷, 再称定质量, 用盐酸-甲醇(1:100) 补足减失的质量, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45 μ m) 滤过, 取续滤液, 即得。

测定法 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L, 注入液相色谱仪, 测定, 即得。

3.4 线性关系考察 精密量取盐酸小檗碱对照品的盐酸-甲醇(1:100) 溶液(0.010 22 g \cdot L $^{-1}$) 1, 5, 10, 15, 20, 30 μ L, 注入液相色谱仪, 记录峰面积, 以对照品进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 结果表明盐酸小檗碱在 0.010 22 ~ 0.306 6 μ g 线性关系良好, 其回归方程为 $Y = 4.597 \times 10^6 X - 2.972 \times 10^2$, $r = 0.999 9$ 。

3.5 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液(批号 6070451) 5 μ L, 分别于配制后 0, 1, 3, 6, 13, 20 h, 峰面积 RSD 0.28%; 结果表明, 供试品溶液在 20 h 内基本稳定。

3.6 空白试验 按处方中药味的比例, 自配不含黄连的群药, 按其工艺制成空白制剂, 再按供试品溶液的制备方法制备并测定, 结果空白溶液在与盐酸小檗碱对照品相同保留时间处未显色谱峰, 故认为无

干扰。图 1, 2, 3。

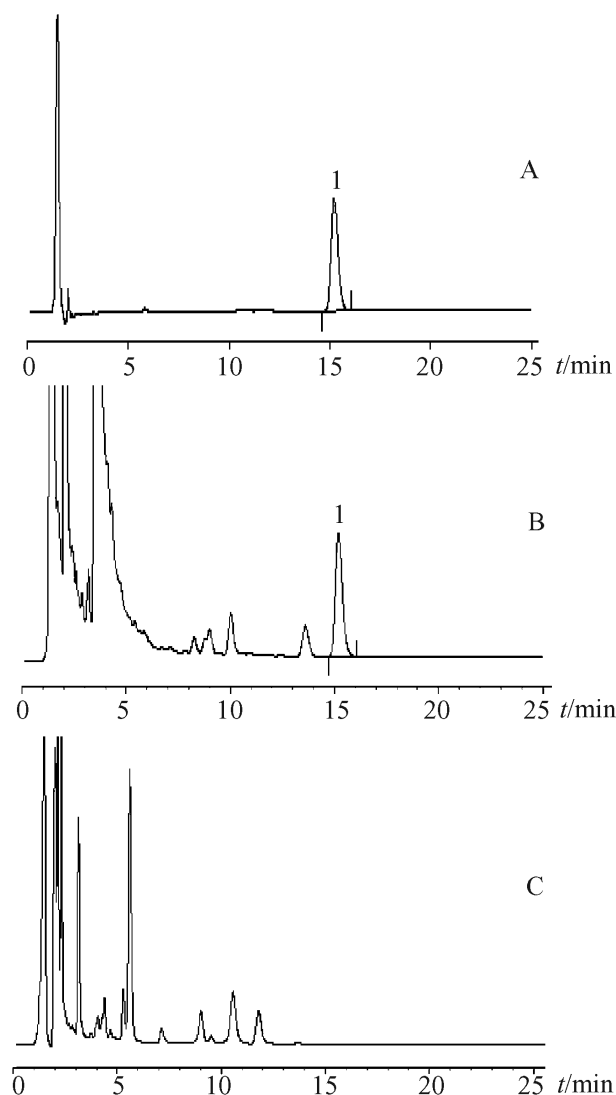


图 1 石斛明目丸 HPLC

A. 对照品; B. 样品; C. 空白; 1. 盐酸小檗碱

3.7 精密度试验 精密吸取对照品溶液(0.010 22 g \cdot L $^{-1}$), 进样 5 μ L, 重复进样 5 次, 求得 RSD 0.26%, 显示精密度良好

3.8 重复性试验 对同一批样品(批号 6070451) 6 份进行测定, 结果盐酸小檗碱含量平均值为 1.537 mg \cdot g $^{-1}$, RSD 0.68%, 表明该方法重复性良好。

3.9 加样回收率试验 采用加样回收法。精密称取已知含量的同一批号的样品(批号 6070451, 含量 1.537 mg \cdot g $^{-1}$) 0.1 g, 精密加入盐酸小檗碱对照品的盐酸-甲醇(1:100) 溶液(15.21 mg/200 mL, 取 20 mL/250 mL) 25 mL, 按供试品溶液的制备方法制备及上述色谱条件测定, 按下式计算回收率, 结果见表 1。

3.10 样品测定 分别取不同批号(6070451, 5073654, 6074295) 样品, 再分别按 3.3 项下操作制备供试品溶液并测定, 结果 3 批样品的盐酸小檗碱含量分别为 9.2, 11.6, 10.4 g \cdot L $^{-1}$ ($n=2$)。

4 讨论

曾采用乙腈-0.1% 磷酸(50:50) (每 100 mL 中含十二烷基磺酸钠 0.1 g)^[11]、乙腈-0.1% 磷酸(1:2)

表 1 盐酸小檗碱加样回收率试验

取样量 /g	样品中含 量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 /%	RSD/%
0.100 1	0.153 9	0.149 2	0.299 8	97.79		
0.102 0	0.156 8	0.149 2	0.302 3	97.52		
0.100 6	0.154 6	0.149 2	0.298 1	96.18	97.71	1.0
0.102 4	0.157 4	0.149 2	0.302 8	97.45		
0.104 5	0.160 6	0.149 2	0.307 1	98.19		
0.101 2	0.155 5	0.149 2	0.303 4	99.13		

(每 100 mL 中含庚烷磺酸钠 0.1 g)、乙腈-0.05 mol·L⁻¹磷酸二氢钠(用磷酸调节 pH 3) (70 30)^[2]、乙腈-0.033 mol·L⁻¹磷酸二氢钾(60 40)^[3], 结果盐酸小檗碱的峰均能达到基线分离, 最后以乙腈-0.1% 磷酸(1 2)(每 100 mL 中含庚烷磺酸钠 0.1 g)为流动相, 分离效果较好。

以甲醇、盐酸-甲醇(1 100)、盐酸-乙醇(1

100)、盐酸-75% 甲醇(1 100)、盐酸-60% 甲醇(1 100)为溶剂, 均采用加热回流 30 min 的提取方法, 结果表明, 采用盐酸-甲醇(1 100)为溶剂, 提取较完全。

以盐酸-甲醇(1 100)为溶剂, 分别加热回流 20, 30, 40 min 及超声处理 30 min, 测定同批样品(批号 6070451), 结果表明, 采用盐酸-甲醇(1 100)为溶剂, 加热回流 30 min 为宜, 提取较完全。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2005: 214
- [2] 马尔丽, 季申. HPLC 测定消 A 洗液中盐酸小檗碱的含量[J]. 中成药, 2010, 23(7): 493.
- [3] 林瑞群, 龙斌. 连蒲双清片中盐酸小檗碱的含量测定[J]. 今日药学, 2009, 19(6): 52.

[责任编辑 顾雪竹]

(上接第 64 页)

3 讨论

通过系统的方法学研究, 我们建立了高效液相色谱测定消核灵胶囊中延胡索乙素含量的方法。采用 C₁₈ 色谱柱(4.6 mm ×150 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-2% 冰乙酸溶液(用三乙胺调 pH 5.0) (25 75); 检测波长 280 nm, 流速 1 mL·min⁻¹, 柱温 30 °C; 进样量 10 μL。定量方法采用外标法。在上述条件下, 延胡索乙素与样品中其他组分色谱峰达到了基线分离, 阴性对照无干扰。

对 10 批次的样品延胡索乙素含量测定结果表明, 该检测方法能够简便、快速、准确的测定制剂中

的延胡索乙素含量。

本方法的建立, 提高了原制剂的质量标准, 加强了制剂的质量控制, 为患者的安全用药提供了更大的保障。

[参考文献]

- [1] 李永溟, 尹可华, 戴翔铃, 等. HPLC 测定消核灵胶囊中熊果酸的含量[J]. 重庆医学, 2002, 31(11): 1145.
- [2] 方东军, 赵润琴, 张鹏, 等. HPLC 法测定安胃片中延胡索乙素的含量[J]. 中医药学报, 2004, 32(5): 36.

[责任编辑 顾雪竹]