

酸枣仁颗粒质量标准研究

陈洪英^{*}, 刘显锋

(河南省宛西制药股份有限公司, 河南 南阳 473000)

[摘要] 目的: 建立酸枣仁颗粒的质量标准。方法: 采用 HPLC-ELSD 测定了知母中菝葜皂苷元的含量, 采用 TLC 对酸枣仁、知母进行定性鉴别。结果: 菝葜皂苷元在 0.672 ~5.040 μg 峰面积常用对数值对进样量常用对数值呈良好的线性关系, $r=0.99938$, 平均回收率 97.5%, RSD 1.22%, TLC 能对酸枣仁、知母进行专属定性分析。结论: 所建立的方法可准确地进行定性、定量检测, 重复性好, 可作为酸枣仁颗粒的质量控制。

[关键词] 酸枣仁颗粒; 酸枣仁; 知母; 质量标准

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)13-0077-03

Quality Standard for Suanzaoren Granules

CHEN Hong-ying^{*}, LIU Xian-feng

(Hennan Wanxi Pharmacy Co., Ltd., Nanyang 473000, China)

[Abstract] **Objective:** To establish quality standard for Suanzaoren Granules. **Method:** Smilax Sapogenin in Rhizoma anemarrhenae was determined by HPLC-ELSD. Senmen ziziphi spinosae, Rhizoma anemarrhenae were identified by TLC. **Result:** Smilax Sapogenin was linear in the range of 0.672-5.040 μg , $r=0.99938$. The average recovery was 97.5%, RSD was 1.22%. Senmen ziziphi spinosae, Rhizoma anemarrhenae could be identified by TLC. **Conclusion:** The method is accurate and can be used for the quality control of Suanzaoren Granules.

[Key words] Suanzaoren Granules; *Ziziphus spinosa* Hu; *Anemarrhena asphodeloides* Bge.; quality standard

酸枣仁颗粒由酸枣仁合剂经剂型改革研制而成的颗粒剂, 原剂型收载于《中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂》第七册^[1]。由酸枣仁、知母、茯苓、川芎等中药制成, 具有清热泻火、养血安神之功效。用于虚烦不眠、心悸不宁、头目眩晕等症。市售合剂携带、贮存、运输不便, 故将其制成颗粒剂。为了有效控制产品质量, 用 TLC 对方中的酸枣仁、知母进行鉴别。用 HPLC-ELSD 对方中知母进行了菝葜皂苷元的含量测定。从而更好地控制了产品质量, 提高了其质量标准。

1 材料

1.1 仪器 Agilent 1100 高效液相色谱仪及其化学

工作站, ELSD 2000ES 蒸发光散射检测器 (Alltech 公司), 德国 BP211D Satorius 1/10 万电子天平。

1.2 试药 菝葜皂苷元对照品 (批号 0744-200005, 供含量测定用), 酸枣仁对照药材 (批号 120904-200110, 供鉴别用), 知母对照药材 (批号 121070-200208, 供鉴别用) 以上均购于中国药品生物制品检定所; 酸枣仁颗粒及阴性对照样品由宛西制药股份有限公司提供; 甲醇为色谱纯, 水为重蒸馏水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别

2.1.1 酸枣仁的鉴别^[2] 取本品颗粒 2 g 研细, 加甲醇 30 mL, 加热回流 1 h, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液^[1]。另取酸枣仁对照药材 0.5 g, 制成对照药材溶液。再取缺酸枣仁的阴性对照样品 2 g, 制成阴性对照溶液。吸取供试品溶液, 对照药材溶液, 阴性对照样品溶液各 10

[收稿日期] 2010-05-04

[通讯作者] ^{*} 陈洪英, 主管药师, 从事新药开发及质量标准的研究, Tel: 0377-63536961, E-mail: yfbwanxi@163.com

μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以水饱和的正丁醇为展开剂, 展开, 取出, 晾干喷以 1% 香草醛硫酸溶液, 立即检视。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。阴性对照溶液无相应斑点。

2.1.2 知母的鉴别^[2] 取本品颗粒 2 g, 研细, 加乙醇 25 mL, 超声处理 40 min, 滤过, 滤液蒸至近干, 加水 10 mL, 盐酸 2 mL, 加热回流 1 h, 放冷, 用三氯甲烷振摇提取 3 次, 每次 15 mL, 合并三氯甲烷提取液, 蒸干, 残渣加甲苯 2 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取知母对照药材 0.5 g, 制成对照药材溶液。再取缺知母阴性对照样品 2 g, 制成阴性对照溶液。吸取供试品溶液, 对照药材溶液, 阴性对照溶液各 10 μL , 分别点于同一硅胶 G 板薄层板上, 以正己烷-乙酸乙酯(1:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 8% 香草醛无水乙醇溶液与硫酸溶液(7:10) 的混合液(1:5), 在 100 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照药材色谱中相应位置上, 显相同颜色的斑点, 阴性对照样品不显斑点。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱 Hypersil ODS C_{18} (4.6 mm \times 150 mm, 5 μm); 流动相甲醇-水(90:10); 流速 1.0 mL \cdot min⁻¹; 柱温 30 ; ELSD 2000ES 蒸发光散射检测器; 漂移管温度 85 , 气流速度 1.7 L \cdot min⁻¹。理论板数按菝葜皂苷元峰计算应不低于 4000。

2.2.2 对照品溶液的制备 取菝葜皂苷元对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成 0.6736 g \cdot L⁻¹ 的溶液, 即得对照品贮备液。再精密吸取 5 mL, 置 10 mL 量瓶中加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得 0.3368 g \cdot L⁻¹ 的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品颗粒适量, 研细, 取 1g, 精密称定, 加水 20 mL, 超声处理(功率 250 W, 频率 50 kHz) 20 min, 加盐酸 2 mL, 加热回流 2h, 取出, 放冷, 用三氯甲烷振摇提取 4 次(40, 40, 30, 30 mL), 合并三氯甲烷提取液, 蒸干, 残渣加甲醇溶解, 并转移至 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.4 阴性样品溶液的制备 取缺知母的阴性对照样品 1 g, 精密称定, 按供试品溶液的制备方法制成阴性样品溶液。

2.2.5 系统适用性试验 取上述 3 种溶液各 10 μL

分别测定, 结果见图 1。试验结果表明, 供试品溶液与对照品溶液有相同保留时间的色谱峰, 并且阴性样品溶液在菝葜皂苷元色谱峰相应的保留时间处无干扰, 菝葜皂苷元与其他组分达到基线分离, 理论板数按菝葜皂苷元峰计算应为 4000。

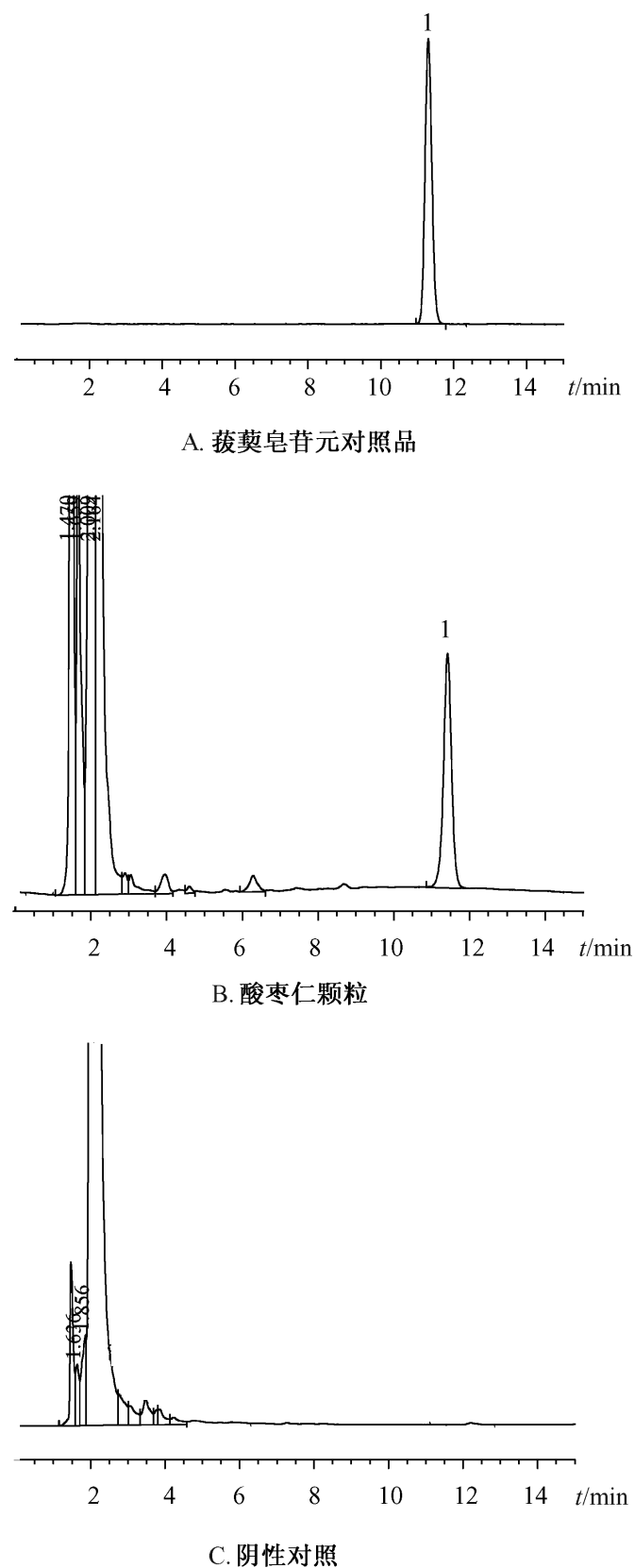


图 1 酸枣仁颗粒 HPLC 色谱

2.2.6 线性关系考察 分别精密吸取菝葜皂苷元对照品溶液(0.3368 g \cdot L⁻¹) 2, 5, 8, 10, 12, 15 μL , 按 2.2.1 项下注入液相色谱仪, 记录峰面积。以峰面积积分值的常用对数值(Y) 为纵坐标, 以进样量的常用对数值(X) 为横坐标进行线性回归, 得回归方程为 $Y=1.89 X - 3.56$, $r=0.99938$, 结果表明, 菝葜皂苷元进样量在 0.674 ~5.052 μg 线性关系良

好。
2.2.7 精密度试验 精密吸同一对照品溶液, 连续进样 5 次, 测得菝葜皂苷元峰面积值 RSD 0.58%, 表明精密度良好。

2.2.8 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 8, 24, 48 h 进样 10 μL , 测得峰面积值 RSD 1.0%, 表明供试品溶液在 48 h 内稳定。

2.2.9 重复性试验 取批号 20051101 酸枣仁颗粒

按 **2.2.3** 项下方法, 分别制备 6 份供试品溶液, 测定菝葜皂苷元含量平均值为 $1.35 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 1.41%, 表明重复性良好。

2.2.10 回收率试验 取已知含量的样品(批号 20051101, 含量 $1.35 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$), 精密称定, 各加入 $0.6736 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 的菝葜皂苷元对照品溶液 1 mL, 按 **2.2.3** 项下方法制备各加样回收样品溶液, 按 **2.2.1** 项下测定, 计算回收率。见表 1。

表 1 酸枣仁颗粒中菝葜皂苷元加样回收率测定

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	0.5012	0.6766	0.6736	1.3301	97.02	97.5	1.22
2	0.5121	0.6913	0.6736	1.3396	96.24		
3	0.5059	0.6870	0.6736	1.3412	97.12		
4	0.4998	0.6747	0.6736	1.3455	99.58		
5	0.5116	0.6907	0.6736	1.3493	96.88		
6	0.5066	0.6839	0.6736	1.3451	98.16		

2.2.11 样品测定 取样品 10 批, 按 **2.2.3** 项下及 **2.2.1** 项下, 精密吸取对照品溶液 5, 10 μL 及供试品溶液 10 μL 测定, 见表 2。

表 2 样品中菝葜皂苷元含量测定 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

批号	含量	批号	含量
20051101	1.35	20080501	1.43
20051102	1.41	20080802	1.42
20051103	1.38	20090605	1.31
20060601	1.40	20090806	1.29
20070402	1.41	20091001	1.36

根据测定结果及考虑到药材来源及产地差异, 暂定本品含知母以菝葜皂苷元 ($\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}_3$) 计不得低于 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

3 讨论

本试验通过对薄层条件的反复摸索对方中酸枣仁、知母进行了研究, 制定了其定性鉴别方法, 按照药典^[1] 酸枣仁薄层鉴别, 分离度较好。《中国药典》知母^[1] 用苯提取, 以苯-丙酮(9:1) 为展开剂。考虑到苯毒性较大, 为了减少污染, 利于环保, 改用三氯甲烷提取, 以正己烷-乙酸乙酯(1:1) 为展开剂, 薄层斑点分离较好, 阴性无干扰, 专属性好。

因本组方复杂, 君药酸枣仁中成分测定方法不大成熟, 故对臣药知母进行含量测定, 由于知母中菝葜皂苷经水解后可产生菝葜皂苷元, 且结构清楚, 性质稳定, 测定方法成熟。因此我们选择菝葜皂苷元作对照品进行皂苷的含量测定。曾用甲醇-水(95:5)^[1], 甲醇-乙腈(48:52)^[2], 甲醇为流动相, 结果样品峰分离不好。将流动相改为甲醇:水(90:10), 样品峰分离较好。

漂移管温度的选择中, 经多次试验, 漂移管的温度高, 则峰面积小, 通过试验证明漂移管温度选择在 85 最合适。

本文建立的菝葜皂苷元定量分析方法, 分离度好, 结果准确, 为该药品的质量控制提供了科学、简便、有效的检测方法。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂[S]. 第 7 册. 1998: 198.
- [2] 中国药典[S]. 一部. 2005: 255, 148.
- [3] 柯仲成, 周亚球, 方超. HPLC-ELSD 法测定抗病毒滴丸中菝葜皂苷元[J]. 中草药, 2006, 37(增刊): 236.

[责任编辑 顾雪竹]