

## 鼻敏通胶囊质量标准研究

程耀堂\*, 马燕

(安徽中医学院附属针灸医院 现代中药安徽省工程技术研究中心, 合肥 230061)

[摘要] 目的: 建立鼻敏通胶囊的质量标准。方法: 采用 TLC 法鉴别方中的川芎、独活和防风。用 HPLC 法测定蛇床子素的含量, 采用 Shim-Pack ODS 柱(4.6 mm ×150 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水(60:40), 检测波长 322 nm, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>。结果: TLC 色谱法检出川芎、独活和防风, 阴性对照无干扰。蛇床子素浓度在 5.68 ~56.80 μg·mL<sup>-1</sup> 范围内线性关系良好( $r=0.9998$ )。平均回收率为 99.27%, RSD=1.01% ( $n=6$ )。结论: 建立的 TLC 和 HPLC 方法专属性强、灵敏度高、重复性好, 可用于鼻敏通胶囊的质量控制。

[关键词] 鼻敏通胶囊; 质量标准; 薄层色谱; 高效液相色谱; 蛇床子素

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)05-0070-03

## Studies on the Quality standard of Bimintong Capsule

CHENG Yao-tang\*, MA Yan

(Acupuncture and Moxibustion Hospital Affiliated to Anhui College of Traditional Chinese Medicine & Anhui Modern Engineering Technology Research Center of Chinese Medicine, Anhui Hefei 230061, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish the quality standard of Bimintong Capsule. **Method:** Rhizoma chuanxiong, Radix Angelicae pubescentis, and Radix saposhnikoviae were identified by TLC. The HPLC method was established to determine the content of osthole. A Shim-Pack ODS column was used with acetonitrile-water(60:40) as mobile phases. The flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. The detection wavelength was at 322 nm. **Result:** Rhizoma chuanxiong, Radix Angelicae pubescentis, and Radix saposhnikoviae could be identified by TLC and there were noninterference of the negative controls. Osthole was linear in the range of 5.68 ~56.80 μg·mL<sup>-1</sup> ( $r=0.9998$ ). The average recovery was 99.27%, and RSD 1.01% ( $n=6$ ). **Conclusion:** The method established can be used as quality control for Bushen Jianpi Granule.

**[Key words]** Bimintong Capsule; Quality standard; TLC; HPLC; Osthole

鼻敏通胶囊是我院临床应用多年的经验方, 为中药复方制剂, 由川芎、白芷、防风、独活等中药组成, 具有清热解毒、疏风消肿、利咽通窍的功效。用于风热所致的急慢性鼻炎、鼻窦炎及咽喉炎。为有效控制本制剂质量, 本文采用薄层色谱法对制剂中川芎、独活、防风进行定性鉴别, 采用 HPLC 法测定蛇床子素含量。

### 1 仪器与试药

waters 600 型高效液相色谱仪(美国); waters uv

996 紫外检测器(美国); AD-2 型百万分之一电子天平(美国 PE 公司); BP210S 型万分之一电子天平(德国赛多利斯); 硅胶 G 薄层板(烟台化工研究所); 川芎对照药材(批号 120918-200406), 蛇床子素对照品(批号 110822-200406), 升麻素苷对照品(批号 111522-200406), 5-O-甲基维斯阿米醇苷对照品(批号 111523-200405) 均为中国药品生物制品检定所提供; 鼻敏通胶囊和阴性制剂(安徽中医学院附属针灸医院自制); 乙腈(色谱纯); 水(重蒸水); 其他试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

#### 2.1 薄层色谱鉴别

[收稿日期] 2009-12-25

[通讯作者] \* 程耀堂, Tel: (0551) 2665047; E-mail:

Yaotangcheng@126.com

**2.1.1 川芎的鉴别<sup>[1]</sup>** 取本品内容物 3 g, 加乙醚 50 mL 浸渍 1 h, 时时振摇, 滤过, 药渣备用, 滤液低温挥去乙醚, 残渣加乙酸乙酯 2 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, 同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 B) 试验, 吸取供试品溶液 5 ~10  $\mu$ L 和对照药材溶液 5  $\mu$ 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, 显相同的荧光主斑点。

**2.1.2 独活的鉴别<sup>[2]</sup>** 取蛇床子素对照品, 加乙醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 B) 试验, 吸取 2.1.1 项下的供试品溶液 5 ~10  $\mu$ L 和上述对照品溶液 5  $\mu$ 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, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点。

**2.1.3 防风的鉴别<sup>[1]</sup>** 取 2.1.1 项下的药渣, 加甲醇 50 mL, 超声提取 20 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 25 mL 使溶解, 滤过, 滤液加水饱和的正丁醇提取 2 次, 每次 25 mL, 合并正丁醇提取液, 用等量的氨试液洗 1 次, 弃去氨液, 正丁醇液水浴蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取升麻素苷和 5-O-甲基维斯阿米醇苷对照品, 分别加乙醇制成每 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 B) 试验, 吸取对照品溶液 3  $\mu$ L 和供试品溶液 10  $\mu$ L, 分别点于同一羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 GF<sub>254</sub> 薄层板上, 以三氯甲烷-甲醇(4:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(254 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主斑点。

**2.2 蛇床子素的含量测定<sup>[3]</sup>** 独活为本方臣药, 主要含有香豆素类成分, 包括蛇床子素、当归醇、异欧香豆素等。本研究选定蛇床子素为含量测定指标, 采用高效液相色谱法测定制剂中蛇床子素的含量。

**2.2.1 色谱条件与系统适用性试验** 色谱柱 Shim-Pack ODS (4.6 mm  $\times$  150 mm, 5  $\mu$ m); 流动相乙腈-水(60:40); 检测波长 322 nm; 柱温 25  $^{\circ}$ C; 流速 1.0 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>; 进样量 20  $\mu$ L; 理论板数按蛇床子素峰计

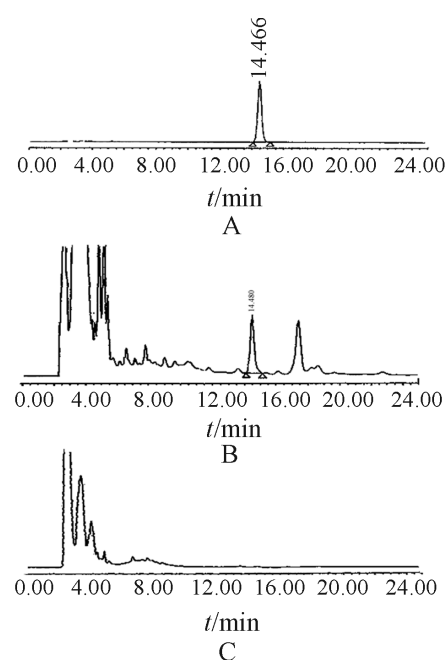
算不少于 3 000。

**2.2.2 对照品溶液的制备** 精密称取蛇床子素对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 30  $\mu$ g 的溶液, 即得。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 取本品内容物, 研细(过 4 号筛), 取约 2.0 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 密塞, 称定重量, 回流提取 30 min, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 精密吸取续滤液 25 mL, 蒸干, 残渣用甲醇溶解, 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 阴性对照溶液的制备** 取缺独活的阴性制剂, 按 2.2.3 项制备阴性对照溶液。

**2.2.5 阴性干扰试验** 分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性溶液各 20  $\mu$ L, 按上述色谱条件进行测定, 结果阴性溶液在与对照品相应的保留时间处无峰出现, 可见本品中其他成分对蛇床子素的测定无干扰。见图 1。



A. 蛇床子素对照品; B. 鼻敏通胶囊样品; C. 阴性样品

图 1 对照品、样品、阴性样品 HPLC 色谱图

**2.2.6 标准曲线的制备与线性关系的考察** 精密吸取蛇床子素对照品溶液(0.056 8 mg  $\cdot$  mL<sup>-1</sup>) 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀。分别吸取 20  $\mu$ L, 依次注入液相色谱仪中, 按上述色谱条件测定, 以蛇床子素浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标进行线性回归, 得线性回归方程为:  $A = 7.90 \times 10^4 C - 8.20 \times 10^4$ ,  $r = 0.999 8$  ( $n = 6$ )。结果表明, 蛇床子素在 0.113 6 ~ 1.136  $\mu$ g 范围内呈良好的线性关系。

**2.2.7 稳定性试验** 将按 2.2.3 项制备的供试液(批号 081012), 分别于制备后的 0, 2, 4, 6, 8 h 按上述色谱条件测定, 结果蛇床子素峰面积分别为

2847892, 2866660, 2833052, 2878124, 2845359, RSD = 0.63%, 表明供试液在 8 h 内稳定。

**2.2.8 精密度试验** 取按 2.2.3 项制备的供试液(批号 081012), 按上述色谱条件注入液相色谱仪, 连续进样 5 次, 结果蛇床子素峰面积分别为 2768134, 2780167, 2752294, 2762583, 2773368, RSD = 0.38%, 表明该法精密度良好。

**2.2.9 重复性试验** 取同一批号样品(批号 081012) 共 6 份, 按 2.2.3 项制备供试液, 精密量取该溶液和对照品溶液各 20  $\mu$ L, 按上述色谱条件注入液相色谱仪, 测定峰面积, 计算蛇床子素含量, 结果 RSD = 1.35%, 表明方法重复性良好。

**2.2.10 加样回收率试验** 取已知含量(0.1185 mg/粒) 内容物, 研细, 过 4 号筛, 取约 1 g, 精密称取 6 份, 分别置具塞锥形瓶中, 分别精密加入蛇床子素对照品适量, 按 2.2.3 项制备供试品溶液, 依法测定, 计算, 结果平均回收率为 99.27%, RSD = 1.01% ( $n=6$ ), 具体结果见表 1。

表 1 加样回收率试验

称样量 /g	样品中蛇床子素量 /mg	加入蛇床子素对照品量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1.0317	0.1881	0.110	0.2986	100.47		
1.0098	0.1841	0.110	0.2938	99.74		
1.0792	0.1967	0.176	0.3720	99.60	99.27	1.01
1.1024	0.2010	0.176	0.3727	97.56		
0.9926	0.1810	0.242	0.4218	99.52		
0.9608	0.1752	0.242	0.4141	98.74		

**2.2.11 样品测定** 取 3 批样品按 2.2.3 项制备样

品溶液, 分别精密吸取样品溶液和对照品溶液各 20  $\mu$ L, 注入液相色谱仪, 按外标法计算蛇床子素含量, 见表 2。

表 2 样品的含量测定

No.	蛇床子素
081012	0.1185
081014	0.1165
081016	0.1138

### 3 讨论

本方为中药复方制剂, 采用薄层色谱鉴别方法对方中的独活, 防风, 川芎进行鉴别, 并进行了阴性对照试验, 结果方法简便且专属性强。

对供试品溶液的制备方法进行了优选, 分别考察了不同提取溶剂(甲醇和乙酸乙酯), 不同提取方法(水浴回流和超声提取) 以及不同提取时间(10 min, 20 min, 30 min, 40 min) 之间的相互差异, 最后确定了以甲醇回流提取 30 min 为最佳。

鼻敏通胶囊为医院临床验方, 在医院临床使用多年, 一直未建立其质量控制标准, 通过本项研究可更好地控制鼻敏通胶囊的质量, 以保证临床疗效的稳定, 并可为其进一步开发提供支持。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2000: 102, 185.
- [2] 苗明三, 李振国. 现代实用中药质量控制技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 777.
- [3] 徐以亮, 徐海波, 李松. HPLC 测定独活药材及配方颗粒中蛇床子素的含量[J]. 中成药, 2005, 27(01): 109.