

调经姊妹丸质量标准的研究

刘吉金^{*}, 谢耀轩, 熊 英
(深圳市药品检验所, 广东 深圳 518029)

[摘要] 目的: 建立调经姊妹丸的质量控制方法。方法: 采用 TLC 法鉴别处方中青皮、丹参、大黄、莪术、肉桂; 用 RP-HPLC 法测定该药中橙皮苷的含量。结果: 在薄层色谱中能检出青皮、丹参、大黄、莪术、肉桂; 橙皮苷在 (10.12~ 253) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的范围内线性关系良好, $r = 0.9997$, 平均回收率为 98.3%, RSD 为 2.7%。结论: 该方法简便、准确可靠, 可有效控制调经姊妹丸的质量。

[关键词] 调经姊妹丸; 质量标准; 橙皮苷

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)05-0023-04

Study on quality standard for Tiaojing Zimei Pills

LIU Ji-jin^{*}, XIE Yao-xuan, XIONG Ying
(Shenzhen Institute for Drug Control, Shenzhen 518029, China)

[收稿日期] 2007-09-13

[通讯作者] * 刘吉金, Tel: (0755) 25874446; E-mail: liujijin@163.com

[**Abstract**] **Objective:** To establish a quality standard for Tiaojing Zimei Pills. **Methods:** Pericarpium Citri Reticulatae Viride, Radix Et Rhizoma Salviae Miltirrhizae, Radix Et Rhizoma Rhei, Rhizoma Curcumae and Cortex Cinnamomi were identified by TLC, and the content of Hesperidin was determined by HPLC. **Results:** Pericarpium Citri Reticulatae Vidide, Radix Et Rhizoma Salviae Miltirrhizae, Radix Et Rhizoma Rhei, Rhizoma Curcumae and Cortex Cinnamomi could be detected by TLC, Hesperidin showed a good linear relationship in the range of (10.12~ 253) $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $r = 0.9997$, The average recovery was 98.3%, and RSD was 2.7%. **Conclusion:** The methods are simple and accurate, and can be used for the quality control of Tiaojing Zimei Pills.

[**Key words**] Tiaojing Zimei Pills; quality standard; hesperidin

调经姊妹丸由红花、青皮、莪术、香附(醋炙)、肉桂、大黄等组成,具有活血调经,逐瘀生新的功效,用于瘀滞性经血不调,行经腹痛。收载于中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂第一册^[1]。笔者对方中各药味进行了质量标准研究,制订了青皮、丹参、大黄、莪术、肉桂的薄层色谱鉴别方法和橙皮苷的含量测定方法。方法较为简便快速,结果准确可靠,可有效控制本品的质量。

1 仪器与试剂

939 型全自动薄层铺板器(重庆南岸贝尔德仪器技术厂);薄层板:自制;德国戴安 Dionex summit P680A 高效液相色谱仪,包括 P680A 四元梯度泵、AS1-100 自动进样器、TTC-100 柱温箱、PDA-100 二极管阵列检测器、Chromeleon 色谱工作站。

对照药材:青皮(1155-200001)、丹参(120923-200408)、大黄(120984-200301 药用大黄)、肉桂(121363-200401),对照品:丹参酮 II_A(110766-200416)、大黄酸(0757-9703)、大黄素(110756-200110)、莪术醇(100185-200506)、桂皮醛(0710-200212)、橙皮苷(110721-200211 含量测定用)均购于中国药品生物制品检定所;调经姊妹丸样品由邯郸制药有限公司、江西保利制药有限公司、石家庄市华龙药业股份有限公司、西安碑林药业股份有限公司提供;甲醇为色谱纯,其它试剂为分析纯。

2 定性鉴别

2.1 青皮的鉴别 取调经姊妹丸 4 g,研细,加甲醇 20 mL,超声处理 15 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。取青皮对照药材 0.5 g,同法制成对照药材溶液。再取橙皮苷适量,加甲醇制成饱和溶液,作为对照品溶液。另按处方制备缺青皮的阴性样品 4 g,研细,按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。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,分别在对照药材色谱及对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,阴性对照无干扰,见图 1。



图 1 青皮薄层色谱图

- 1. 青皮阴性对照溶液
- 2. 青皮对照药材溶液
- 3. 橙皮苷对照品溶液
- 4. 供试品溶液 1
- 5. 供试品溶液 2
- 6. 供试品溶液 3

2.2 丹参、大黄的鉴别 取调经姊妹丸 6 g,加乙醚 20 mL,超声提取 15 min,滤过,滤液挥干,残渣加乙酸乙酯 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。取丹参 0.5 g,大黄 0.5 g,同法制得对照药材溶液。取丹参酮 II_A 对照品,加乙酸乙酯制成每 1 mL 含 2 mg 的溶液,取大黄酸、大黄素对照品适量,加乙酸乙酯分别制成 1 mL 含 0.5 mg 的溶液,作为对照品溶液。另按处方制备缺丹参阴性和缺大黄阴性样品各 6 g,按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。吸取上述七种溶液各 5 μL ,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(30~60)℃-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1)的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,置日光下检视。供试品色谱中,分别在丹参对照药材色谱及丹参酮 II_A

对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,丹参阴性对照无干扰。将薄层板置氨蒸气中熏后,供试品色谱中,分别在对应大黄对照药材色谱及大黄素、大黄酚对照品色谱相应的位置上,显相同的红色斑点,大黄阴性对照无干扰,见图 2。

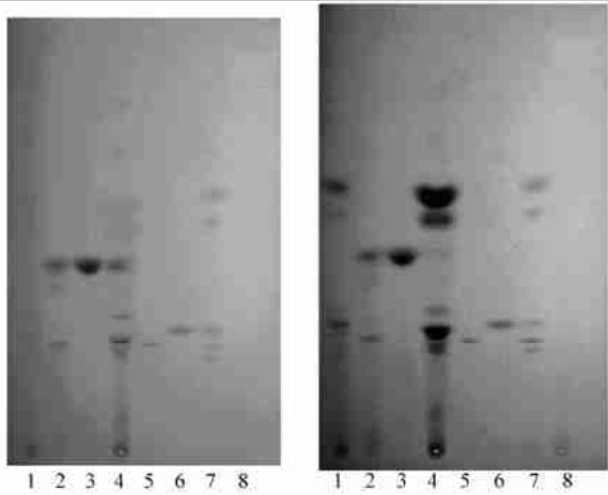


图 2 丹参、大黄薄层色谱图

- 1. 丹参阴性对照溶液
- 2. 丹参对照药材溶液
- 3. 丹参酮 II_A 对照品溶液
- 4. 供试品溶液
- 5. 大黄对照品溶液
- 6. 大黄素对照品溶液
- 7. 大黄对照药材溶液
- 8. 大黄阴性对照溶液

2.3 莪术的鉴别 取丹参、大黄鉴别项下的供试品溶液作为供试品溶液。取莪术醇适量,加乙酸乙酯制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液,作为对照品溶液。另按处方制备缺莪术的阴性样品 6 g,按供试液制备方法同法制备缺莪术阴性对照溶液。吸取上述 3 种溶液各 5 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正己烷:乙酸乙酯(4:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 香草醛硫酸溶液,105 °C 加热至斑点显色清晰,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色斑点,莪术阴性对照无干扰,见图 3。

2.4 桂皮的鉴别 取调经姊妹丸 6 g,研细,加乙醇 20 mL,超声处理 20 min,滤过,滤液低温蒸干,残渣加乙酸乙酯 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。取肉桂

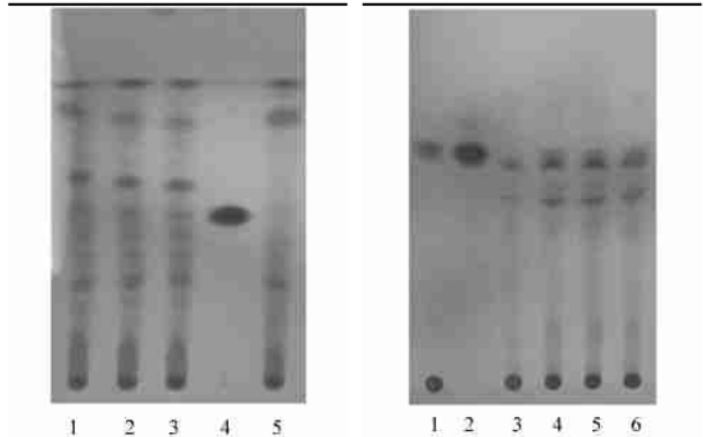


图 3 莪术薄层试验图

- 1. 2. 3. 供试品溶液
- 4. 莪术醇
- 5. 莪术阴性

图 4 肉桂薄层色谱

- 1. 2. 3. 供试品溶液
- 4. 肉桂阴性对照
- 5. 肉桂对照药材
- 6. 桂皮醛对照品

对照药材 0.5 g,同法制成对照药材溶液。再取桂皮醛对照品适量,加乙酸乙酯制成每 1 mL 含 2 μL 的溶液,作为对照品溶液。取按处方制备缺肉桂的阴性 6 g,按供试液制备方法同法制备缺莪术阴性对照溶液。吸取上述 4 种溶液各 5 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以甲苯:醋酸乙酯:冰醋酸(18:1:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以二硝基苯胍乙醇试液,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色斑点,阴性对照无干扰,见图 4。

3 含量测定

3.1 溶液的制备

3.1.1 对照品溶液的制备 取橙皮苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含 50 μg 的溶液,即得。

3.1.2 供试品溶液得制备 取本品,粉碎,过 3 号筛,取约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,密塞,称定重量,超声处理(功率 120 W,频率 40 KHz) 1 h,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 1 mL,置 5 mL 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得。

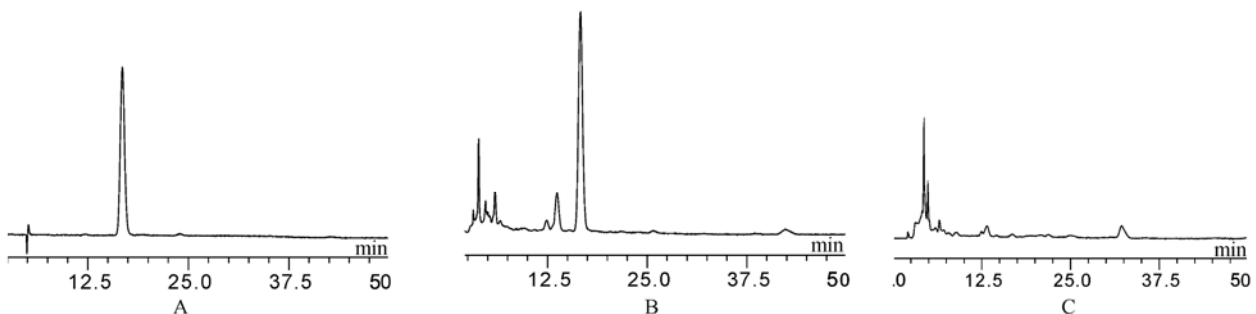


图 5 橙皮苷对照品(A)、调经姊妹丸(B)、阴性样品(C) HPLC 色谱图

3.1.3 阴性对照溶液的制备 按处方组成,取除青皮外的其余 9 味,按工艺要求制成不含青皮的丸剂,按供试品溶液制备项下的方法制备,即得。

3.2 色谱条件 色谱柱:岛津 Shim-pack CLC-ODS (M) (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)。流动相:甲醇-水(48:52);检测波长:284 nm;流速 0.7 mL·min⁻¹;柱温:35℃。分别精密吸取 3.1.1 项 3.1.2 项 3.1.3 项溶液各 10 μL 进样,结果见图 5。图 5 表明,在该色谱条件下,橙皮苷能达到基线分离保留时间约 16 min,阴性对照不干扰橙皮苷的测定,理论板数按橙皮苷峰计应为 4 750。

3.3 线性关系考察 精密称取橙皮苷 12.65 mg,置 50 mL 量瓶中,加甲醇适量,超声使溶解,加甲醇至刻度,作为对照品储备液,精密量取储备液 0.2, 0.6, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL,分别置 5 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,精密吸取 10 μL,注入液相色谱仪,平行进样各 2 次,以 2 次峰面积平均值为纵坐标,橙皮苷浓度(μg·mL⁻¹)为横坐标,在(10.12~253) μg·mL⁻¹ 的范围内,得回归方程为 $Y = 0.4369X + 0.6786$ ($r = 0.9997$)。

3.4 提取方法的选择试验

3.4.1 超声法 取本品,粉碎,过 3 号筛,取约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,密塞,称定重量,超声处理(功率 120 W,频率 40 KHz) 1 h,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 1 mL,置 5 mL 容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得。测得含量为 16.1 mg·g⁻¹。

3.4.2 回流法 取供试品按 3.1.1 法操作,将超声处理 1 h 改为回流 1 h,其余同超声法制备。测得含量为 15.4 mg·g⁻¹。结果用超声法提取效果较好。

3.4.3 提取时间的选择 取同一批供试品 6 份,按超声法提取,分别超声处理 10, 20, 30, 40, 60, 80 min,其余按 3.1.2 法操作,制成供试品溶液,分别测定橙皮苷的含量,结果分别 11.1, 13.1, 14.6, 14.7, 16.1, 15.9 mg·g⁻¹。为表明提取 60 min,效果最好。

3.5 精密度试验 精密称取对照品溶液,重复进样 5 次测得橙皮苷色谱峰面积的 RSD 为 1.02%。

3.6 重复性试验 取同一批供试品(江西保利集团有限公司,批号:061001) 6 份,按含量测定方法测定。结果橙皮苷含量为 15.9 mg·g⁻¹, RSD 为 1.47%,表明重复性良好。

3.7 加样回收试验 取同一批已知含量(江西保利集团有限公司,批号:061001,含量 15.9 mg·g⁻¹)的供试品 6 份,每份取样量为供试品取样(0.5 g)的 50%,以当前取样含量的 1:1,分别精密加入橙皮苷对照品溶液(0.39 mg·mL⁻¹) 10 mL,精密加入甲醇 15 mL,按含量测定方法测定,计算橙皮苷的回收率。结果平均回收率为 98.3%,RSD 为 2.7%。

3.8 稳定性试验 取同一份供试品溶液,按含量测定方法,分别在 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 h 进样测定,结果峰面积平均值为 29.207, RSD 为 2.5%。结果表明供试品溶液 20 h 内测定基本稳定。

3.9 含量测定 按此方法测定调经姊妹丸样品 14 批,含量结果分别为 14.2, 21.4, 30.5, 32.6, 18.1, 17.8, 20.1, 15.8, 25.2, 26.7, 28.5, 36.5, 36.1, 35.4。

4 小结与讨论

薄层色谱鉴别均经方法学验证,在温度(4~30)℃,相对湿度在 35%~88% 范围内,用预制板和自制板分别试验,表明该法耐用性良好。

青皮的薄层色谱鉴别,文献^[2]用 0.1% 氢氧化钠制备的硅胶 G 自制板,采用二次展开;本文分别试验了硅胶 G 自制板、硅胶 G 预制板、硅胶 G-CMC·Na 自制板、0.1% 氢氧化钠制备的硅胶 G 自制板,结果硅胶 G-CMC·Na 自制板与 0.1% 氢氧化钠制备的硅胶 G 自制板效果相当,为了操作方便,不需特殊制备薄层板,选用了硅胶 G-CMC·Na 自制板,并且一次展开即可达到良好的分离效果。

丹参和大黄两味药的鉴别可在同一块薄层板上用不同的显色方法鉴别,丹参阴性和大黄阴性对照无干扰。

为控制调经姊妹丸的内在质量,我们选择含量较高,测定方法较为成熟的橙皮苷作为指控指标。橙皮苷的含量测定方法多采用高效液相色谱法。本法可作为调经姊妹丸质量标准中的定量控制指标。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 卫生部药品标准[S]. 第一册, 中药成方制剂, 北京: 卫生部药典委员会, 1989. 135.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005. 17, 52, 89, 103, 136, 181.
- [3] 肖培根. 新编中药志[M]. 第二卷, 北京: 化学工业出版社, 2002. 352-356, 689-696.