

苓栀解郁片的质量标准

牛艳艳*, 冯玛莉, 李培毅, 贾力莉, 武玉鹏
(山西省中医药研究院, 山西 太原 030012)

[摘要] 目的: 研究制定苓栀解郁片质量控制的定性定量方法。方法: 采用薄层色谱法和高效液相色谱法对苓栀解郁片中酸枣仁、远志进行定性鉴别, 对栀子中的栀子苷进行含量测定。结果: 酸枣仁、远志薄层色谱清晰, 无干扰, 重复性良好。栀子苷在 0.058~0.928 μg 范围内呈良好的线性关系, $r=0.9999$; 回收率达到 100.8% ($\text{RSD}=2.5\%$)。结论: 方法简便, 专属性强, 可作为该制剂的质量控制方法。

[关键词] 苓栀解郁片; 酸枣仁; 远志; 薄层色谱; 高效液相色谱; 栀子苷

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2007)01-0010-03

苓栀解郁片是根据我院名老中医临床经验方化裁, 并经过现代药理学实验研究而开发研制的一种新药。主要由茯苓、栀子、酸枣仁、远志、神曲等六味组成。具有清心除烦、养血安神的功效。临床上用于心肝血虚、烦躁易惊等因素所致的心烦失眠、疲倦食少等症。为控制苓栀解郁片药品的质量, 本实验采用薄层色谱法和高效液相色谱法对苓栀解郁片中酸枣仁、远志进行定性鉴别, 对栀子所含主要成分栀子苷进行含量测定。方法简便, 重复性好, 可作为该制剂质量控制指标。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-6A 高效液相色谱仪, SPD-6AV 紫外可见光检测器, CR-3A 积分仪, SIL-6A 自动进样器, 北京 CX-150 超声波清洗器, 德国赛多利斯 BP211D 电子天平。硅胶 G: 青岛海洋化工有限公司制造, 批号: 050124; 乙腈: 色谱纯, 天津康科德科技有限公司(批号 040120); 水: 自制双蒸水; 其余试剂均为分析纯。远志对照药材及酸枣仁皂苷 A、酸枣仁皂苷 B、栀子苷对照品均由中国药品生物制品检定所提供。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别

2.1.1 酸枣仁的薄层色谱鉴别 取本品 38 片, 除去包衣, 研细, 置索氏提取器中, 加乙醚 50 mL, 加热回流 2 h, 弃去乙醚液, 药渣挥干, 加甲醇 50 mL, 加热

回流 4 h, 提取液蒸干, 残渣加水 30 mL 使溶解, 用水饱和正丁醇提取 4 次, 每次 30 mL, 合并正丁醇液, 用氨试液洗涤 2 次, 每次 40 mL, 弃去洗涤液, 正丁醇液蒸干, 残渣加水 10 mL 微热使溶解, 放冷, 通过 D101 型大孔吸附树脂柱(内径 1.5 cm, 柱高 12 cm), 分别用水、30% 乙醇各 100 mL 洗脱, 弃去洗涤液, 继用 50% 乙醇 100 mL 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取酸枣仁皂苷 A、酸枣仁皂苷 B 对照品, 加甲醇制成每 1 mL 各含 1 mg 的溶液, 作为对照品溶液。再取去酸枣仁阴性样品 38 片, 同法制成阴性样品溶液。吸取上述供试品溶液和阴性样品溶液各 10 μL 、对照品溶液 5 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-甲醇-水(13:7:2)的下层溶液为展开剂, 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, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。

2.1.2 远志的薄层色谱鉴别 取本品 8 片, 研细, 加水 30 mL, 摇匀, 加甲醇-氯仿(3:17)混合溶液, 振摇洗涤 2 次, 每次 40 mL, 弃去洗涤液, 水液用水饱和正丁醇振摇提取 2 次, 每次 40 mL, 合并正丁醇液, 蒸干, 残渣加水 5 mL, 微热使溶解, 通过 D101 型大孔吸附树脂柱(内径 1.5 cm, 柱高 12 cm), 以水 100 mL 洗脱, 弃去水液, 继用 30% 乙醇 100 mL 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取远志对照药材 1 g, 加水 50 mL, 煎煮 20 min, 滤过, 滤液自“加甲醇-氯仿(3:17)”起, 同法制成对照药材溶液。再取去远志阴性样品 8 片, 同法制成阴性样品溶液。吸取上述 3 种溶液各 3 μL , 分别

[收稿日期] 2006-06-26

[通讯作者] * 牛艳艳, Tel: (0351) 4174328

点于同一硅胶G薄层板上,以氯仿:正丁醇:甲醇:水(20:40:10:20)10℃以下放置的下层溶液为展开剂,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。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱: YWG-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 10 μm, 大连依利特科学仪器有限公司); 流动相: 乙腈-水(12:88); 流速: 1.0 mL·min⁻¹。

2.2.2 对照品溶液制备 取干燥至恒重的栀子苷对照品,精密称定(11.6 mg),置100 mL量瓶中,加甲醇适量使溶解并稀释至刻度。再精密量取上述溶液2 mL,置10 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,即得(相当于1 mL溶液中含栀子苷0.023 2 mg)。

2.2.3 供试品溶液制备 取本品20片,去除薄膜衣,研细,取1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加入甲醇100 mL,称定重量,超声处理30 min,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,即得。

2.2.4 供试品阴性对照溶液的制备 处方中除去栀子,按制剂工艺制备,制得供试品阴性对照样品。按2.3项下供试品溶液制备的方法制得供试品阴性对照溶液。

2.2.5 线性关系的考察 取栀子苷对照品溶液(0.116 mg·mL⁻¹),分别加甲醇稀释成每1 mL含栀子苷5.8, 11.6, 23.2, 46.4, 92.8 μg的溶液,各进样10 μL,依上述色谱条件测得峰面积,以栀子苷峰面积积分为纵坐标,以栀子苷进样量(μg)为横坐标,计算得回归方程为: $Y = 1.08 \times 10^6 X + 5.58 \times 10^3$, $r = 0.999 9$ 。栀子苷在0.058~0.928 μg范围内,具有良好的线性关系。

2.2.6 精密度试验 精密吸取上述对照品溶液10 μL,重复进样6次,测得峰面积值相对标准偏差RSD < 2%。

2.2.7 稳定性试验 取室温下放置的供试品溶液,在不同时段精密吸取供试品溶液10 μL,注入高效液相色谱仪中,测定栀子苷的峰面积及保留时间。结果表明,栀子苷峰在48 h内较为稳定,峰面积值平均263 451, RSD = 2.3% (n = 8); 保留时间平均为11.7 min, RSD = 0.9% (n = 8)。

2.2.8 回收率试验 采用加样回收法测定。取已知栀子苷含量为3.23 mg·g⁻¹的清心安神片供试品

20片,去除薄膜衣,研细,取0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入0.116 mg·mL⁻¹的栀子苷对照品溶液10 mL(相当于栀子苷对照品1.16 mg),再精密加入甲醇90 mL。按正文含量测定项下操作并测定栀子苷含量,计算回收率。结果见表1。

表1 栀子苷加样回收率结果

取样量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1.667	1.16	2.836	100.8		
1.618	1.16	2.763	98.7		
1.680	1.16	2.884	103.8	100.8	2.5
1.615	1.16	2.753	98.1		
1.628	1.16	2.820	102.8		

2.2.9 重复性试验 取同一批号供试品适量,去除薄膜衣,研细,分别取6份,每次取1 g。再分别精密称定,按供试品溶液制备项下的方法,分别制得供试品溶液。精密吸取对照品溶液、供试品溶液各10 μL,分别注入高效液相色谱仪中,并测定供试品中栀子苷的含量。结果显示,同一批号供试品中栀子苷的平均含量为3.23 mg·g⁻¹, RSD为1.7%。

2.2.10 样品含量测定 分别精密吸取对照品溶液及供试品溶液各10 μL,分别注入高效液相色谱仪中,测定栀子苷的色谱峰面积,用外标一点法计算每片供试品中栀子苷的含量。结果见表2。

表2 样品含量测定

批号	含量(μg/片)	RSD (%)
20040801	0.885	1.2
20040802	0.676	1.7
20040803	0.721	0.6

栀子药材阴性对照样品色谱图显示,在栀子苷出峰处无其它成分干扰。

3 讨论

3.1 定性鉴别 酸枣仁和远志为方中主药,故选用酸枣仁和远志进行薄层色谱鉴别。因方中药味较多,且含皂苷药味较集中,故取样量宜大,但薄层色谱易出现背景较深的问题。用中国药典2005年版一部酸枣仁和远志项下的薄层鉴别方法^[1],以酸枣仁皂苷A、酸枣仁皂苷B对照品及远志对照药材为对照,供试品色谱干扰较大,参考文献方法^[2,3],经前处理,最后均通过D101大孔吸附树脂,分别用水和不同浓度乙醇梯度洗脱,结果发现不同浓度洗脱液中可检出酸枣仁皂苷A、酸枣仁皂苷B和远志皂苷,

分别与去酸枣仁及远志阴性样品对照,供试品色谱无干扰。

3.2 含量测定 栀子具有清热除烦,镇静安神的药理作用^[2]。根据本制剂的工艺特点,选用 HPLC 测定栀子苷含量作为本制剂质量控制的含量测定指标,既可以较好地控制制剂成品的质量,也可以作为提取工艺的控制指标。供试品溶液制备采用以提取溶剂直接超声提取的方法的制备,目标成分损失较少,稳定性良好,且操作简便,易于掌握。据文献报道,栀子苷的 HPLC 含测多采用乙腈-水、乙腈-0.2% 磷酸溶液、乙腈-磷酸氢二钠溶液等溶液配比作为流动相^[1,4]。本试验结果显示,以乙腈-水(12:88)为流动相,栀子苷色谱峰能够达到基线分离,重复性良好

(RSD= 1.7%),且去栀子阴性供试品无干扰,回收率达到 100.8%,准确度高,可作为本制剂质量控制的含量测定指标。

[参考文献]

- [1] 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. 254, 107, 173.
- [2] 郑虎占,董泽宏,余靖. 中药现代化研究与应用[M]. 北京:学苑出版社,1998. 4584, 2121, 3166.
- [3] 肖培根,李大鹏,杨世林. 新编中药志[M]. 北京:化学工业出版社,2002. 第2卷:648,第1卷:488.
- [4] 国家药品监督管理局编. 国家中成药标准汇编-地方标准上升国家标准部分[S]. 内科. 肝胆分册,2002. 171.