

# 晕可定颗粒定性定量方法的研究

朱 玉, 王晓华\*, 吴宗好

(安徽省医学科学研究所, 安徽 合肥 230061)

[摘要] 目的: 建立晕可定颗粒的质量标准。方法: 采用 TLC 法对晕可定颗粒中远志、枳实、干姜进行定性鉴别; 采用 HPLC 法测定柚皮苷的含量。结果: TLC 鉴别出与远志、枳实、干姜对照药材相对应的斑点; HPLC 法测定出柚皮苷的量在 0.3~3.0 $\mu$ g 范围内线性关系良好( $r=0.9998$ ), 平均回收率为 99.5%, RSD 为 1.2% ( $n=5$ )。结论: 所建立的定性定量方法专属性强, 重复性好, 可以作为晕可定颗粒的质量控制。

[关键词] 晕可定颗粒; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 质量控制

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)05-0021-03

## Study on Qualitative and Quantitative Methods of Yunkeding Granule

ZHU Yu, WANG Xiao-hua\*, WU Zong-hao

(Anhui Institute of Medical Science, Hefei 230061, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a quality standard of Yunkeding granule. **Methods:** *Radix polygalae*, *Fructus aurantii immaturus*, and *Rhizoma zingiberis* in Yunkeding granule were identified by TLC methods; the content of naringin was determined by HPLC methods. **Results:** The relevant spots in *Radix polygalae*, *Fructus aurantii immaturus* and *Rhizoma zingiberis* were identified; the linearity of naringin was in the range of 0.3~3.0 $\mu$ g ( $r=0.9998$ ) and the average recovery was 99.5%, RSD=1.2% ( $n=5$ ). **Conclusion:** These methods are exclusive and repeatable, which can be used as the quality control of Yunkeding granule.

[Key words] Yunkeding granule; TLC; HPLC; quality control

晕可定颗粒由天南星(制)远志、枳实、白术、干姜等 11 味中药组成, 具有豁痰开窍、熄风定旋的功效, 用于风痰上扰所致的眩晕、恶心、呕吐、视物旋转、耳鸣等症。为了更好地控制产品内在质量, 本文采用 TLC 法对制剂中的远志、枳实、干姜进行了定性鉴别, 采用 HPLC 法对制剂中柚皮苷进行了定量测定。

### 1 仪器与试剂

Waters-600E 型液相色谱仪配 996 型二极管阵列紫外检测器(美国 WATERS 公司); 百万分之一电子天

平(美国 PE 公司); SB2200-T 型超声波清洗器(上海奥特赛恩斯仪器公司)。

柚皮苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 0722-200108, 供含量测定用); 枳实对照药材、远志对照药材、干姜对照药材(中国药品生物制品检定所, 批号分别为: 120936-9903、120989-200304、120942-200204 供鉴别测定用), 晕可定颗粒(合肥经方医药科技开发有限公司提供); 磷酸试剂为分析纯, 乙腈为色谱纯, 水为三重蒸馏水。

### 2 方法与结果

#### 2.1 薄层色谱定性鉴别

2.1.1 远志的薄层鉴别<sup>[1]</sup> 取晕可定颗粒 30g, 研细, 加甲醇 100mL, 超声提取 30min, 滤过, 滤液浓缩至约 20mL, 冷却, 加乙醚 60mL, 静置过夜使沉淀完

[收稿日期] 2005-07-20

[通讯作者] 王晓华, Tel: (0551) 2823664, 2824004; E-mail: 1210wxh@sina.com

全, 弃去上清液, 加 10% 盐酸 50mL, 水浴上回流水解 2h, 放冷, 加乙醚萃取 2 次, 每次 50mL, 合并乙醚提取液, 回收至干, 残渣加甲醇 2mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取远志对照药材 5g, 加水 100mL, 煎煮 2 次, 浓缩, 加乙醇至含醇量达 70%, 静置过夜, 上清液蒸干, 残渣加甲醇 20mL, 超声提取 30min, 滤过, 同法制成对照药材溶液。吸取上述溶液各 3 $\mu$ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-丙酮-正己烷-乙酸(8: 4: 0.1: 0.5) 为展开剂, 20℃以下展开, 取出, 晾干, 喷以新鲜配制的 8% 香草醛乙醇溶液与硫酸溶液(7 $\rightarrow$ 10)(0.5: 5) 的混合液, 105℃烘至斑点显色清晰。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; 缺远志的阴性对照样品未见干扰(结果见图 1)。

**2.1.2 枳实的薄层鉴别** 取本品 10g, 研细, 加甲醇 100mL 超声提取 30min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 20mL 使溶解, 加乙醚 25mL 振摇提取, 静置, 弃去乙醚液, 水层用水饱和正丁醇萃取 2 次, 每次 20mL, 合并正丁醇提取液, 置水浴上蒸干, 残渣加甲醇 10mL 使溶解, 吸取 1mL 加甲醇稀释至 5mL, 作为供试品溶液。另取枳实对照药材 2g, 加水 50mL, 煎煮 2 次, 浓缩, 加乙醇至含醇量达 70%, 静置过夜, 取 1/2 上清液, 蒸干, 残渣加水 20mL 使溶

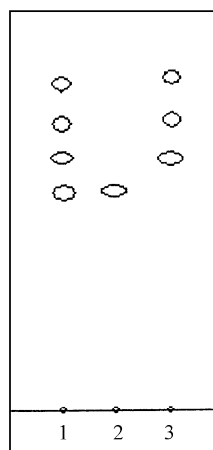


图 1 晕可定颗粒中远志的 TLC 图谱  
1、供试品; 2、远志药材; 3、阴性对照

解, 加乙醚 25mL 振摇提取, 同法制成对照药材溶液。吸取上述溶液各 5 $\mu$ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以醋酸乙酯-甲醇-冰醋酸(15: 2: 1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 1% 三氯化铝乙醇溶液, 置紫外光灯(365nm) 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。缺枳实阴性对照样品未见干扰(结果见图 2)。

**2.1.3 干姜的薄层鉴别**<sup>[2,3]</sup> 取本品 30g, 研细, 加乙醇 100mL, 超声提取 30min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 20mL 使溶解, 加乙醚萃取 2 次, 每次 20mL, 合并乙醚液, 水浴挥干, 残渣加乙醇 2mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取干姜对照药材 3g, 加水 50mL, 煎煮 2 次, 浓缩, 加乙醇至含醇量达 70%, 静置过夜, 取上清液, 蒸干, 残渣加水 20mL 使溶解, 同法制成对照

药材溶液。吸取上述溶液各 5 $\mu$ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-氯仿-丙酮(8: 25: 5) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以新鲜配制的 5% 香草醛硫酸溶液, 热风吹至斑点显色清晰。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, 缺干姜的阴性对照无干扰(结果见图 3)。

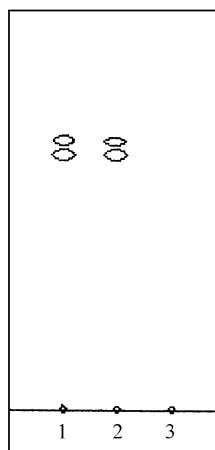


图 2 晕可定颗粒中枳实 TLC 图谱  
1、供试品; 2、枳实药材; 3、阴性对照

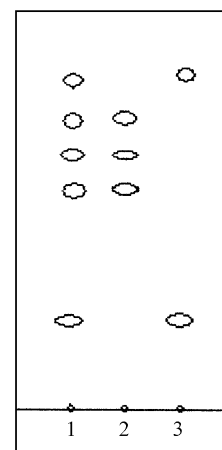


图 3 晕可定颗粒中干姜 TLC 图谱  
1、供试品; 2、干姜药材; 3、阴性对照

## 2.2 柚皮苷的 HPLC 含量测定<sup>[4]</sup>

**2.2.1 色谱条件与系统适应性试验** 色谱柱: Hypersil C<sub>18</sub> 柱(4.6 $\times$ 250mm, 5 $\mu$ m); 流动相: 乙腈-磷酸水溶液(0.1 $\rightarrow$ 820)(22: 78); 流速: 1mL/min; 检测波长: 282nm; 柱温: 25℃; 理论板数应不低于 2000。与其他组分的峰基本分离, 且阴性对照无干扰。

**2.2.2 对照品溶液的制备** 精密称取柚皮苷对照品适量, 置 50mL 量瓶中, 加甲醇制成每 1mL 中含柚皮苷 40 $\mu$ g 的溶液。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 取本品颗粒, 研细, 取约 0.5g, 精密称定, 置具塞三角烧瓶中, 精密加甲醇 50mL, 密塞, 称定重量, 加热回流提取 1.5h, 密塞, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 弃去初滤液, 取续滤液, 用微孔滤膜(0.45 $\mu$ m) 滤过。

**2.2.4 阴性对照溶液的制备** 按制备工艺制备缺枳实的阴性样品, 按供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。

**2.2.5 干扰试验** 照上述色谱条件, 吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 20 $\mu$ L, 分别注入色谱柱。供试品色谱图中, 在与对照品色谱图相应的位置上, 有相同保留时间的色谱峰, 而阴性对照色谱

图在此保留时间无干扰, 见图 4~ 6。

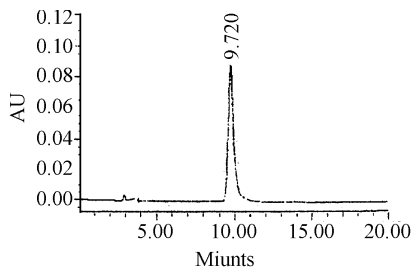


图 4 对照品 HPLC 图

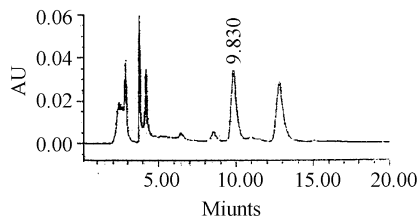


图 5 供试品 HPLC 图

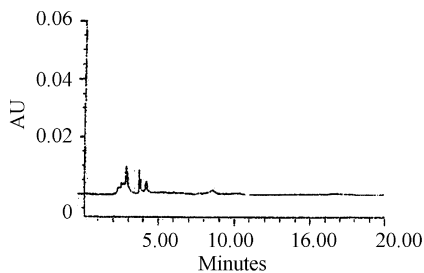


图 6 阴性对照 HPLC 图

**2.2.6 线性范围考察** 精密吸取柚皮苷对照品溶液(每 1mL 中含柚皮苷 15~ 150 $\mu$ g)各 20 $\mu$ L, 分别注入液相色谱仪中, 测定其色谱峰面积积分值。以柚皮苷对照品进样量  $C(\mu\text{g})$  为横坐标, 相应色谱峰面积积分值  $A$  为纵坐标绘制标准曲线, 回归方程  $A = 1.584 \times 10^6 C - 3.968 \times 10^4$ , 相关系数  $r = 0.9998$ 。柚皮苷的线性范围 0.3~ 3.0 $\mu$ g。

**2.2.7 精密度试验** 取供试品液, 连续进样 5 次, 测定其柚皮苷峰面积, 结果相对标准偏差 RSD 为 0.43%。

**2.2.8 重复性试验** 取同一批号样品, 平行制备 5 份供试品溶液, 各精密吸取 20 $\mu$ L, 测定柚皮苷平均含量为 7.30mg/g, RSD 为 1.3%。表明该法有良好的重复性。

**2.2.9 稳定性试验** 取同一供试品溶液, 按上述色

谱条件, 室温放置 0, 2, 4, 8, 16, 24h 后进样, 测定峰面积, 结果在 24h 内样品溶液稳定(RSD 为 0.31%)。

**2.2.10 回收率试验** 采用加样回收率测定法, 精密称取已测定含量的同一批号的样品 5 份, 分别加入柚皮苷对照品, 依法测定, 结果回收率为 98.8%、100.0%、101.2%、99.3% 和 98.1%, 平均回收率为 99.5%, RSD= 1.2%。

**2.2.11 样品测定** 照上述条件和方法测定 3 批样品, 结果见表 1。

表 1 晕可定颗粒样品中柚皮苷含量测定结果

批号	030904	030906	030908
柚皮苷(mg/g)	7.13	5.32	4.44

### 3 讨论

本品处方由十多味中药组成, 成分复杂, 定性鉴别干扰因素多。本文针对各药味所含主要成分的理化性质, 采用不同的样品前处理方法进行提取、分离、纯化; TLC 结果可鉴别出远志、枳实、干姜, 专属性强, 薄层特征斑点清晰, 分离好, 背景污染小, 阴性对照无干扰, 可供复方制剂质量标准制定时参考。

采用 HPLC 法对制剂中枳实主要有效活性成分——柚皮苷进行定量测定, 由于本制剂处方中药味较多, 成分复杂, 实验摸索了多种流动相: 有甲醇-磷酸系统、乙腈-磷酸系统, 以及含磷酸酸量多少不等; 结果以乙腈-磷酸水溶液(0.1 $\rightarrow$ 820)(22:78)为流动相, 流速 1mL/min, 分离度好, 保留时间适中(约 10min), 缺味阴性样品无干扰; 经方法学考察, 线性关系良好, 精密度、稳定性、重复性的 RSD 均在 2% 以内; 加样回收率在 98 至 102% 之间, 且 RSD= 1.2%。结果表明本定量方法可用于晕可定颗粒的质量控制。

### [参考文献]

- [1] 刘友平, 万德光, 黄荣, 等. 薄层扫描法测定远志中远志皂苷元的含量[J]. 中草药, 2000, 32(7): 512-514.
- [2] 周学敏, 张勤. 干姜质量控制方法探讨[J]. 中国中药杂志, 1996, 21(8): 487.
- [3] 余珍, 张荣平, 吴曙光, 等. 姜的辣味成分分析[J]. 昆明医学院学报, 2001, (4): 57-60.
- [4] 林亚伦, 林勇. 枳实药材中柚皮苷含量测定方法研究[J]. 江西中医学院学报, 2000, 12(2): 23.