

# 解郁止痛颗粒质量标准的研究

王旭, 周富荣

(北京市药品检验所, 北京 100035)

**摘要:** 目的: 建立解郁止痛颗粒定性定量的研究方法, 以控制药品质量。方法: 研究制订香附、赤芍、延胡索、黄芩等四味主药薄层色谱鉴别, 采用 HPLC 法测定了臣药赤芍中芍药苷的含量。结果: 薄层色谱鉴别斑点清晰, HPLC 芍药苷在 0.214~0.1070 $\mu$ g 范围内线性良好, 相关系数 0.9998。平均回收率为 99.66%, *RSD* 为 0.71%。结论: 此方法简便、可靠、实用。

**关键词:** 解郁止痛颗粒; HPLC; 芍药苷

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2003)01-0016-03

## Studies on Quality Standard of Jieyuzhitong Granules

WANG Xu, ZHOU Fu-rong

(Beijing Institute for Drug Control, Beijing 100035, China)

**Abstract:** Objective: To establish the quality control methods for Jieyuzhitong Granules. Method: Rhizoma Cyperi Radix Paeoniae Rubra Rhizoma corydalis Radix scutellariae in Jieyuzhitong Granules were identified by TLC. The paeoniflotoxin in Jieyuzhitong Granules was determined by HPLC. Result: The studies on the quality control showed that the characteristics for identification by TLC were distinct. The quantification method had the linear range of 0.214~1.070 $\mu$ g. The average recovery was 99.66% and its *RSD* was 0.71%. Conclusion: The quality standard of the Jieyuzhitong Granules were established. The methods were simple, reproducible and realizable.

**Key words:** Jieyuzhitong Granules; HPLC; Paeoniflotoxin

解郁止痛颗粒是由香附、赤芍、川芎、当归、延胡索等九味经加工制成的三类新药, 用于治疗头痛。方中香附、赤芍为君药, 根据处方所含药味化学性质及剂型特点, 研究制订了香附、赤芍、延胡索、黄芩四味主药薄层色谱鉴别和 HPLC 法测定君药赤芍中芍药苷含量的方法, 以控制质量。据报道芍药苷的含量测定方法有比色法、薄层扫描法、HPLC 法及衍生化后采用高效液相色谱法等, 本研究选用 HPLC 法, 采用乙腈-水 (17: 83) 为流动相, 检测波长 230nm。

结果表明, 芍药苷在 0.214~1.070 $\mu$ g 范围内线性良好, 相关系数 0.9998。平均回收率为 99.66%, *RSD* 为 0.71%。

## 1 仪器、样品与试剂

HP1100 高效液相色谱仪; 对照品: 芍药苷(供含量测定用, 批号 0736-9912)、香附酮、延胡索乙素、黄芩苷(中国药品生物制品检定所)。实验样品(北京嘉德公司生产), 批号为 990625, 990627, 990701。乙腈: 色谱纯; 其他试剂均为分析纯。

## 2 定性鉴别

**2.1 香附的薄层色谱** 取本品 8g, 加石油醚(30~60℃) 30ml 回流提取 30min, 放冷, 滤过, 滤液挥至约 1ml 作为供试品溶液。另取  $\alpha$  香附酮对照品, 加乙醇制成每 1ml 含 1 $\mu$ l 的溶液, 作为对照品溶液。按处方自配不含香附的群药, 按制法制成阴性对照, 同法制成阴性对照溶液。吸取上述三种溶液各 5 $\mu$ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正己烷-醋酸乙酯(17:3) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以二硝基苯肼试液, 放置片刻。供试品色谱中在与对照品色谱相应位置上显相同颜色的斑点, 阴性对照无干扰。

**2.2 赤芍的薄层色谱** 取本品 8g, 加乙醇 50ml, 回流提取 30min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 20ml 使溶解, 滤过, 滤液加水饱和的正丁醇振摇提取 2 次, 每次 20ml, 合并正丁醇液, 加正丁醇饱和的水洗涤 2 次, 每次 20ml。取正丁醇液蒸干, 残渣加乙醇 1ml 使溶解, 作为供试品溶液。另取芍药苷对照品, 加乙醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液, 作为对照品溶液。按处方自配不含赤芍的群药, 按制法制成阴性对照, 同法制成阴性对照溶液。吸取上述三种溶液各 5 $\mu$ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-醋酸乙酯-甲醇-甲酸(40:5:10:2) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 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品色谱相应位置上显相同颜色的斑点, 阴性对照无干扰。

**2.3 延胡索中延胡索乙素的薄层色谱** 取本品 8g, 加氨试液 1ml 使湿润, 加乙醚 20ml, 超声处理 20min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加乙醇 1ml 使溶解, 作为供试品溶液。另取延胡索乙素对照品, 加乙醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液, 作为对照品溶液。按处方自配不含延胡索的群药, 按制法制成阴性对照, 同法制成阴性对照溶液。吸取上述三种溶液各 3 $\mu$ l, 分别点于同一用 1% 氢氧化钠制成的硅胶 G 薄层板上, 以正己烷-氯仿-甲醇(7.5:4:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 以

碘蒸气熏至斑点显色清晰。在空气中挥尽板上吸附的碘后, 置紫外光灯(365nm) 下检视, 供试品色谱中在与对照品色谱相应位置上显相同颜色的荧光斑点, 阴性对照无干扰。

**2.4 黄芩中黄芩苷的薄层色谱** 取本品 8g, 加乙醇 50ml 回流提取 30min, 放冷, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 30ml 使溶解, 通过已处理好的聚酰胺柱(3g, 干法装柱), 加水 20ml 洗脱, 弃去洗脱液, 继续用乙醇 50ml 洗脱, 收集乙醇洗脱液, 蒸干, 加水 10ml 使溶解, 加醋酸乙酯 20ml 振摇提取, 提取液蒸干, 残渣加乙醇 1ml 使溶解作为供试品溶液。另取黄芩苷对照品, 加乙醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液, 作为对照品溶液。按处方自配不含黄芩的群药, 按制法制成阴性对照, 同法制成阴性对照溶液。吸取上述三种溶液各 10 $\mu$ l, 分别点于同一用 4% 醋酸钠溶液制备的硅胶 G 薄层板上, 使成条状, 以醋酸乙酯-丁酮-甲酸水(5:3:1:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 1% 三氯化铁乙醇试液。供试品色谱中在与对照品色谱相应位置上显相同颜色的斑点, 阴性对照无干扰。

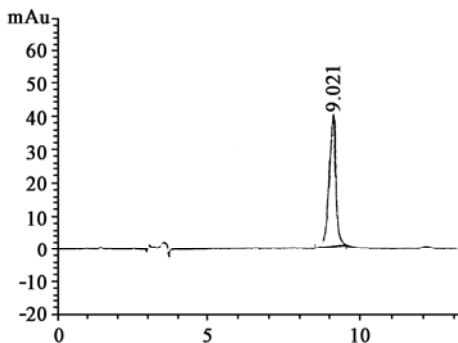
### 3 定量测定

**3.1 对照品溶液的制备** 精密称取芍药苷对照品 10mg, 加甲醇制成每 1ml 含芍药苷 50 $\mu$ g 的溶液。

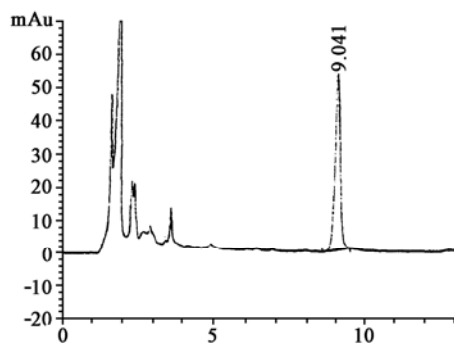
**3.2 供试品溶液的制备** 取本品装量差异项下的内容物, 混匀, 研细, 取约 0.2g, 精密称定, 加水 10ml 使溶解, 并定量转移至已处理好的聚酰胺柱上(3g, 80~100 目, 内径 1.0cm, 干法装柱) 以水 25ml 洗脱, 收集洗脱液, 置 50ml 量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀, 微孔滤膜(0.45 $\mu$ m) 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 $\mu$ l, 注入液相色谱仪测定。

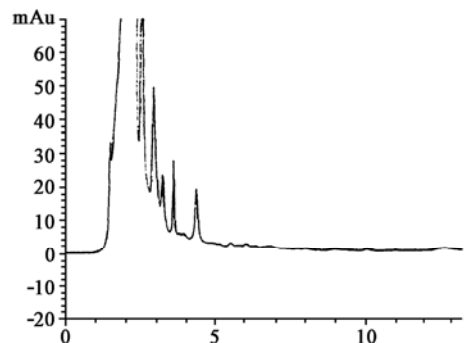
**3.3 色谱分析条件** 色谱柱 C<sub>18</sub>; 流动相: 乙腈-水(17:83); 检测波长 230nm。理论板数按芍药苷峰计算, 应不低于 3000。色谱图见下图。



芍药苷对照品 HPLC 图



解郁止痛颗粒样品 HPLC 图



空白 HPLC 图

**3.4 线性关系考察** 精密量取芍药苷对照品溶液(0.1070mg/ml) 1, 2, 3, 4, 5ml 置 5ml 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 分别吸取 10 $\mu$ l 注入高效液相色谱仪, 记录峰面积, 以对照品的  $\mu$ g 数对峰面积作图, 得到一条通过原点的直线, 其回归方程为:  $Y = 1170.0X + 0.4$  相关系数 0.9998, 结果表明, 芍药苷在 0.214~ 1.070 $\mu$ g 范围内线性良好。

**3.5 稳定性试验** 取同一供试品溶液, 分别于配制后 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6h, 依法测定, 结果表明, 供试品溶液在 6h 内基本稳定,  $RSD = 1.10\%$ 。

**3.6 精密度试验** 精密吸取同一供试品溶液, 重复进样 5 次, 求得相对标准偏差  $RSD = 0.44\%$ 。

**3.7 重复性试验** 按样品测定方法, 对同一批(批号 990625) 样品 6 份进行测定, 求得相对标准偏差  $RSD = 0.43\%$ 。

**3.8 空白试验** 空白溶液的制备是按处方中药味的比例, 自配不含赤芍的群药, 按其工艺制成阴性对照, 再按样品溶液制备方法制备并测定, 结果空白溶液在与芍药苷对照品相同保留时间处未显色谱峰, 故认为无干扰。见上图。

**3.9 回收率实验** 采用加样回收法。精密吸取已知含量的同一批号(批号 990625) 的样品 0.1g, 分别精密加入芍药苷对照品溶液(15.62mg  $\rightarrow$  50ml) 各 5ml, 按样品测定方法测定, 结果见表 1, 平均回收率为 99.66%,  $RSD$  为 0.71%。

表 1 芍药苷加样回收率试验

样品中芍药苷量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)
1.419	1.562	2.979	99.87
1.425	1.562	2.979	99.49
1.438	1.562	2.992	99.49
1.431	1.562	2.972	98.66
1.433	1.562	2.989	99.62
1.412	1.562	2.987	100.83

**3.10 测定结果** 测定三批样品的含量分别为 14.06, 14.08, 13.98mg/g, 根据所测结果, 制剂的含量限度暂订为不得少于 11mg/g。

**4 讨论**

**4.1** 曾试用甲醇-水-冰醋酸(50: 60: 1); (35: 64.5: 0.5); (30: 64.5: 0.5); (25: 75: 0.5)。乙腈-水(15: 85); (17: 83) 等流动相, 结果以乙腈-水(17: 83) 分离最好。

**4.2** 提取方法的选择 曾试用以下方法提取(1) 样品加水溶解后, 加水饱和正丁醇提取;(2) 样品加水溶解后, 加水饱和正丁醇提取, 正丁醇提取后过中性氧化铝柱;(3) 样品加水溶解后加水饱和正丁醇提取, 正丁醇提取后过聚酰胺柱;(4) 样品加水溶解后, 乙醚脱脂, 再用正丁醇提取;(5) 样品甲醇回流提取后蒸干, 加水溶解后, 加水饱和正丁醇提取(6) 样品加水溶解后过聚酰胺柱的方法测定同批样品, 测得结果分别为 16.52; 15.45; 16.61; 16.73; 17.37; 19.60mg/g。结果表明, 采用方法;(6) 较适宜。

**4.3** 洗脱溶剂用量的确定 取样品, 加水溶解后通过聚酰胺柱加水洗脱, 每 15ml 为 1 份, 分次收集洗脱液, 滤过, 注入色谱仪, 结果表明加水 30ml 即可洗净。

**4.4** 曾考察样品加水溶解后加水饱和正丁醇提取, 结果回收率为 70%, 无法进行含量测定。

**4.5** 取赤芍药材约 0.08g, 精密称定, 精密加入甲醇 50ml, 超声处理 30min, 放冷, 加甲醇补足减失的重量, 摇匀, 微孔滤膜(0.45 $\mu$ m) 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。如上法测定, 即得。结果含量分别为 5.33%, 4.65%, 4.15%。

**参考文献:**

[1] 沙世炎. 中草药有效成分分析法[J]. 北京: 人民出版社, 1975. 208.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 176, 192.