

黔曲质量标准

文萍¹, 赵雯², 余良忠^{1*}, 虞金宝¹

(1. 江西省中医药研究院, 南昌 330046; 2. 江西省食品药品检验所, 南昌 330029)

[摘要] 目的: 建立黔曲质量标准。方法: 用薄层鉴别方法鉴别木香、大黄、枳实, 用 HPLC 测定橙皮苷含量, 色谱柱为 Dikma Diamonsil C₁₈ (4.0 mm × 250 mm 5 μm), 流动相乙腈-0.02% 磷酸水溶液 (19:81), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 283 nm。结果: 定性鉴别分离度好、重复性好、专属性强; 橙皮苷线性范围为 10.568 ~ 528.4 mg·L⁻¹ ($r = 0.999\ 98$), 平均回收率为 100.18%, RSD 2.73%, 精密度 RSD 0.37% ($n = 6$), 重复性 RSD 0.88% ($n = 6$)。结论: 方法可靠、准确、专属性强, 可用于该制剂的质量控制。

[关键词] 黔曲; 橙皮苷; 高效液相色谱; 木香; 大黄; 薄层色谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)24-0077-03

Quality Standard for Qianqu

WEN Ping¹, ZHAO Wen², YU Liang-zhong^{1*}, YU Jin-bao¹

(1. Institute of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica of Jiangxi Province, Nanchang 330046, China; 2. Jiangxi Provincial Institute for Food and Drug Control, Nanchang 330029, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the quality standard for Qianqu. **Method:** Radix et Rhizoma Rhei, Radix Aucklandiae and Fructus Aurantii immaturus were identified by TLC. Strychnine was determined by HPLC, and chromatographic conditions was as follows: column of Dikma Diamonsil C₁₈ (4.0 mm × 250 mm 5 μm), mobile phase consisting of acetonitrile-0.02% H₃PO₄ (19:81), flow rate of 1 mL min⁻¹, and detection wavelength of 283 nm. **Result:** The characteristic identification by TLC was distinct and highly specific. Strychnine showed a good linear relationship at a range of 10.568-528.4 mg·L⁻¹ ($r = 0.999\ 98$), the average recovery was 100.18% (RSD 2.73%), precision with RSD of 0.37% ($n = 6$), repetition with RSD of 0.88% ($n = 6$) and stability with RSD of 0.70%. **Conclusion:** The method is reliable, accurate, specific and can be used for quality control of the production.

[Key words] Qianqu; hesperidin; HPLC; Radix et Rhizoma Rhei; Radix Aucklandiae; TLC

黔曲来源于部颁中药 02 册, 由广藿香、莱菔子 (炒)、青皮、牵牛子、茯苓、枳实 (炒)、甘草、香附 (醋炒)、紫苏、山楂 (炒)、木香、苍术 (麸炒)、香薷、麦芽 (炒)、大黄、法半夏 (姜汁炒)、陈皮、青蒿、面粉、荆

芥、麦麸、白芷、辣蓼、酒曲组成, 功能为健脾开胃, 理气导滞, 清暑化湿, 用于食积饱胀, 胸闷腹痛, 不思饮食, 暑湿感冒。本次研究增加了木香、大黄、枳实薄层鉴别方法, 用高效液相色谱法测定了制剂中橙皮苷的含量。

1 仪器与试剂

HP-1100 高效液相色谱仪 (G1311A 泵, G1315A 检测器), 橙皮苷对照品 (批号 0721-200010, 110721-200211, 110721-200613), 辛弗林对照品 (批号 0727-9603), 大黄素对照品 (批号 0756-9505), 去氢木香内酯对照品 (供鉴别用, 批号 1525-200001) 均来源中

[收稿日期] 20110516(010)

[基金项目] 江西省卫生厅中医药科研课题 (2010A106)

[第一作者] 文萍, 助理研究员, 从事中药分析研究, Tel: 0791-8501125, E-mail: wenp818@yahoo.cn

[通讯作者] * 余良忠, 副研究员, 从事中药分析及制剂研究, Tel: 0791-8501125, E-mail: ylz94@yahoo.cn

国药品生物制品检定所, 黔曲(批号 091101, 091102, 100201, 100202, 100203), 乙腈为色谱纯, 其他试剂为分析纯级。

2 方法与结果

2.1 大黄 TLC 取黔曲研细, 称取 5 g, 加 60 mL 甲醇超声提取 30 min, 滤过, 滤液水浴蒸干, 残渣加 30 mL 水使溶解, 并加入 1.0 mL 浓盐酸, 在水浴上酸解 10 min, 立即进行冷却, 酸水液置分液漏斗中, 用乙酸乙酯萃取 2 次, 每次 30 mL, 合并提取液, 水浴蒸干, 残渣加乙酸乙酯 1 mL 使溶解, 为黔曲供试品溶液。取大黄素对照品, 加乙酸乙酯制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液, 为对照品溶液。取按工艺制成缺大黄的黔曲制剂 5 g, 按供试品制备方法制成阴性对照溶液。

吸取上述大黄素对照品溶液 3 μ L 及黔曲供试品溶液和大黄阴性对照溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正己烷-乙酸乙酯-甲酸(16:3:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置氨蒸气中熏至斑点清晰。黔曲供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 阴性无干扰。

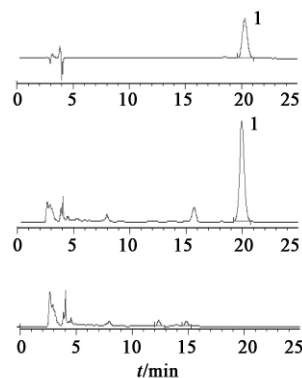
2.2 木香 TLC 取黔曲研细, 称取 5 g, 加乙酸乙酯 60 mL 超声处理 30 min, 滤过, 滤液直接通过中性氧化铝柱(粒度为 100~200 目, 3.0 g), 全部收集, 蒸干, 残渣加乙酸乙酯 1 mL 使溶解, 为黔曲供试品溶液。取去氢木香内酯对照品加乙酸乙酯制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液, 为对照品溶液。取按黔曲工艺制成缺木香的黔曲制剂 5 g, 同供试品方法制成阴性对照溶液。吸取上述溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正己烷-乙酸乙酯(8:1)为展开剂, 在氨试液饱和和下展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 在约 80 $^{\circ}$ C 烘至斑点清晰。黔曲供试品色谱中, 在与去氢木香内酯对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 阴性无干扰。

2.3 枳实 TLC 取黔曲研细, 称取 5 g, 加 60 mL 甲醇超声处理 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加 30 mL 水使溶解, 通过聚酰胺柱(粒度为 60~90 目, 2.0 g), 再加水 30 mL 洗脱, 全部收集, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 为黔曲供试品溶液。取辛弗林对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液, 为对照品溶液。取按黔曲制备工艺制成缺枳实的黔曲制剂 5 g, 同供试品方法制成阴性对照溶液。吸取上述对照品溶液 5 μ L 及余 2 种溶液各 10 μ L, 分别点于同一

高效硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-甲醇(10:3)为展开剂, 在氨蒸气饱和和下展开, 取出, 晾干, 喷以 0.5% 茚三酮乙醇溶液, 在 105 $^{\circ}$ C 烘至斑点清晰。黔曲供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 阴性无干扰。

2.4 含量测定

2.4.1 色谱条件 Dikma Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μ m), 流动相乙腈-0.02% 磷酸溶液(19:81), 检测波长 283 nm, 柱温为常温, 进样量 10 μ L。理论板数不低于 2 500。在此条件下黔曲供试品溶液中橙皮苷峰得到良好分离(图 1)。



A. 对照品; B. 样品; C. 阴性对照; 1. 橙皮苷
图 1 黔曲 HPLC

2.4.2 对照品溶液的制备 取橙皮苷对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含约 0.1 mg 的溶液。

2.4.3 供试品溶液的制备 取黔曲适量, 粉碎, 过 100 目筛, 并混合均匀, 取约 0.5 g, 置带塞锥形瓶中, 精密称定, 精密加入 25 mL 甲醇, 称定质量, 超声处理 45 min, 放冷, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为黔曲供试品溶液。

2.4.4 阴性对照试验 取按黔曲制备工艺制成缺陈皮、青皮、枳实的黔曲制剂, 依橙皮苷含量测定供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液, 取此阴性对照溶液 10 μ L, 进行测定, 结果在橙皮苷色谱峰相应的位置上, 无色谱峰出现。

2.4.5 线性关系考察 取橙皮苷对照品, 精密称取 13.21 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇使完全溶解, 摇匀, 备用(每 1 mL 含橙皮苷 0.528 4 mg)。取此对照品溶液, 以甲醇为溶剂稀释为 10.568, 21.136, 42.272, 105.68, 211.36 mg $\cdot$ L⁻¹, 分别吸取 10 μ L, 注入液相色谱仪中, 按确定色谱条件测定峰面积, 将橙皮苷浓度与相应峰面积进行线性回归处理, 得回归

方程 $Y = 3.512 + 11.415X$, $r = 0.999\ 98$ ($n = 6$), 线性关系良好, 浓度范围 $10.568 \sim 528.4\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.4.6 精密度试验 精密吸取黔曲同一供试品溶液 $10\ \mu\text{L}$, 并进样连续 6 次, 测定橙皮苷峰面积, $\text{RSD}\ 0.37\%$ 。

2.4.7 稳定性试验 精密吸取黔曲同一供试品溶液 $10\ \mu\text{L}$, 间隔一定时间测定橙皮苷峰面积值, 共进样 6 次, 结果表明, 本品在 13 h 内稳定, 数据结果分析 RSD 为 0.70% 。

2.4.8 重复性试验 取同一批样品以规定方法进行提取和测定, 共 6 份, 测得橙皮苷平均含量为 $11.33\ \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, $\text{RSD}\ 0.88\%$ 。

2.4.9 加样回收率试验 取黔曲粉末(过 100 目筛), 共 6 份, 精密称取约 $0.25\ \text{g}$, 置具塞三角瓶中, 精密加入 $15\ \text{mL}$ 橙皮苷对照品($0.193\ 1\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), 再精密加入 $10\ \text{mL}$ 甲醇, 余下同确定方法制备, 进行测定, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 黔曲中橙皮苷加样回收率测定

No.	样品中含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	2.850 6	2.896 5	5.811 2	102.21	100.18	2.73
2	2.843 8	2.896 5	5.798 2	102.00		
3	2.832 5	2.896 5	5.817 2	103.05		
4	2.852 9	2.896 5	5.630 2	95.88		
5	2.851 8	2.896 5	5.705 3	98.52		
6	2.857 4	2.896 5	5.736 5	99.40		

2.4.10 样品测定 取黔曲制剂按确定的制备方法制成供试品溶液, 并选择优化的色谱条件进行测定。测得另 4 批黔曲样品橙皮苷含量为 $11.24, 8.58, 8.39, 8.27\ \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

3 讨论

大黄药材中主要含有蒽醌类化合物, 包括大黄酸、大黄素、大黄酚、芦荟大黄素、大黄素甲醚等。大黄素在药材中以苷元和糖苷形式共同存在, 因此先用甲醇进行提取, 再以盐酸水解后乙酸乙酯提取制备供试品溶液, 以正己烷-乙酸乙酯-甲酸($16:3:1$)为展开剂和氨蒸气为显色剂分离效果较好, 且 R_f 值适中, 阴性无干扰。

木香主要化学成分为去氢木香内酯类和氨基酸

类等。去氢木香内酯属倍半萜类成分, 为脂溶性成分。本次薄层鉴别试验发现去氢木香内酯和熊果酸斑点易重合难分离, 采用氨试液饱和展开可以进行二者分离, 同时为减少杂质干扰, 采用石油醚($30 \sim 60\ ^\circ\text{C}$)提取和乙酸乙酯提取后过中性氧化铝柱制备供试品溶液进行实验, 结果以后者结果较好, 杂质较少, 分离良好, 斑点清晰。

枳实主要成分为黄酮类、生物碱类及挥发油类等。因辛弗林为生物碱类成分, 易溶于水, 因此, 参考《中国药典》枳实药材含量测定项下的供试品溶液制备方法, 采用甲醇提取, 蒸干后残渣水溶解液通过聚酰胺柱, 再加水洗脱, 全部收集蒸干, 残渣加甲醇溶解作为供试品溶液进行实验, 结果以三氯甲烷-甲醇($10:3$)为展开剂在氨蒸气饱和下展开和 0.5% 茚三酮乙醇溶液为显色剂分离效果较好, 杂质较少。

黔曲共有 21 味中药, 且药量相对都较平均, 考虑陈皮、青皮和枳实都含有橙皮苷, 样品中相对含量会较高, 因些参考文献^[1-5]测定制剂中橙皮苷的含量。文献资料^[1-5]中橙皮苷的含量测定均采用甲醇作为提取溶剂, 考虑本方药味较多, 且全部打粉入药, 对不同的提取方式、提取溶剂的种类、提取溶剂的用量及提取时间均进行了考察, 根据试验结果确定了最佳的方案。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2005: 136.
- [2] 国家药品监督管理局. 国家中成药标准汇编中成药地方标准上升为国家标准部分: 骨伤科分册[S]. 2002: 321.
- [3] 国家药品监督管理局. 国家中成药标准汇编中成药地方标准上升为国家标准部分: 内科 肺系 1 分册[S]. 2002: 190.
- [4] 国家药品监督管理局. 国家中成药标准汇编中成药地方标准上升为国家标准部分: 内科 肺系 2 分册[S]. 2002: 79.
- [5] 国家药品监督管理局. 国家中成药标准汇编中成药地方标准上升为国家标准部分: 口腔 肿瘤 儿科分册[S]. 2002: 218.

[责任编辑 蔡仲德]