

扭伤归胶囊的质量标准提升[△]

黄萍^{1*}, 冯有龙^{2#}, 周娟娟², 时佩¹, 史清水²(1.南京中医药大学药学院, 南京 210023; 2.江苏省食品药品监督检验研究院, 南京 210019)

中图分类号 R927.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2022)06-0718-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2022.06.12



摘要 目的 为提高扭伤归胶囊的质量标准提供参考。方法 在现行质量标准的基础上,建立扭伤归胶囊中白芷和知母的薄层色谱(TLC)鉴别方法,建立同时测定芒果苷、升麻素苷、柚皮苷、新橙皮苷和5-O-甲基维斯阿米醇苷5种成分含量的高效液相色谱(HPLC)法并确定限度。结果 扭伤归胶囊供试品TLC图中,在与相应(混合)对照品或白芷、知母对照药材相同位置上,均显相同颜色的斑点,且阴性对照无干扰。芒果苷、升麻素苷、柚皮苷、新橙皮苷和5-O-甲基维斯阿米醇苷检测质量浓度的线性范围分别为7.98~127.63、6.74~107.84、53.06~848.96、39.31~628.90、13.54~216.62 μg/mL(r 均为0.999 9);精密性、稳定性(24 h)、重复性试验的RSD均不高于1.20%($n=6$),平均加样回收率分别为95.00%、105.16%、97.16%、101.00%、104.97%(RSD≤1.50%, $n=6$)。4批样品中,上述5种成分的平均含量分别为0.842、0.696、6.951、5.755、1.106 mg/g,方中知母、防风、枳壳分别以芒果苷含量、升麻素苷和5-O-甲基维斯阿米醇苷总量、柚皮苷和新橙皮苷总量计不得少于0.42、0.90、6.36 mg/粒。结论 本研究建立了扭伤归胶囊中白芷、知母的TLC鉴别方法及芒果苷等5种成分的含量测定方法,并确定了方中知母、防风、枳壳的限度。

关键词 扭伤归胶囊;鉴别;含量测定;质量标准提升

Study on the improvement of quality standard for Niushanggui capsules

HUANG Ping¹, FENG Youlong², ZHOU Juanjuan², SHI Pei¹, SHI Qingshui² (1. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 2. Jiangsu Institute for Food and Drug Control, Nanjing 210019, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To provide reference for the improvement of the quality standard for Niushanggui capsules. **METHODS** Based on the previous quality standard, thin-layer chromatography (TLC) identification methods were established for *Angelicae dahurica* and *Anemarrhenae asphodeloides*. High performance liquid chromatography (HPLC) method was established to determine the contents of 5 components simultaneously, such as mangiferin, prim-*O*-glucosylcimifugin, naringin, neohesperidin and 5-*O*-methylvisammioside. The limits were confirmed. **RESULTS** TLC chromatogram of Niushanggui capsules showed the same color spots in the same position as the corresponding (mixed) substance control or reference medicinal material of *A. dahurica* and *A. asphodeloides*, while the negative samples had no interference. The linear range of mangiferin, prim-*O*-glucosylcimifugin, naringin, neohesperidin and 5-*O*-methylvisammioside were 7.98-127.63, 6.74-107.84, 53.06-848.96, 39.31-628.90, 13.54-216.62 μg/mL, respectively (all $r=0.999$ 9). RSDs of precision, stability (24 h) and repeatability tests were all no more than 1.20% ($n=6$). The average recoveries were 95.00%, 105.16%, 97.16%, 101.00% and 104.97% (RSD≤1.50%, $n=6$). In 4 batches of samples, the average contents of the above 5 components were 0.842, 0.696, 6.951, 5.755 and 1.106 mg/g respectively; the limits of *A. asphodeloides*, *Saposhnikovia divaricata* and *Citrus aurantium* were based on the contents of mangiferin, the total content of prim-*O*-glucosylcimifugin and 5-*O*-methylvisammioside, naringin and neohesperidin, which would not be less than 0.42, 0.90 and 6.36 mg/grain, respectively. **CONCLUSIONS** TLC identification methods of *A. dahurica* and *A. asphodeloides* and the content determination methods of 5 components as mangiferin in Niushanggui capsules are established in this study, and the limits of *A. asphodeloides*, *S. divaricata* and *C. aurantium* are confirmed.

KEYWORDS Niushanggui capsules; identification; content determination; improvement of quality standard

扭伤归胶囊由当归、防风、枳壳、浙贝母、知母、天南星(制)、瓜蒌、白芷、红花9味药组成,具有理气、活血化瘀、消肿止痛的作用,常用于胸肋、腰背、四肢等软组织急性损伤。方中当归乃血中之气药,盖气调则血和,故

有血滞能通、血虚能补、血枯能润、血乱能接之功;防风、天南星(制)为祛风散血、除疾之要药;枳壳有破气行疾、开胃健脾之功;浙贝母、知母、瓜蒌能清肺、泻火、化痰,有润肺止咳之效;白芷能散风除湿、芳香通窍;红花有破瘀之功,瘀行则血活。

扭伤归胶囊现行质量标准为原国家食品药品监督管理总局颁布的国家药品标准YBZ08332006-2015,但仅包含了当归、防风、枳壳、红花4味药的薄层色谱(thin-layer chromatography, TLC)鉴别和浙贝母中贝母

[△] 基金项目:国家药典委员会国家药品标准提高研究课题(No. YBZ08332006-2015)

* 硕士研究生。研究方向:中药质量控制与品质评价。E-mail: 849092110@qq.com

通信作者:主任药师,硕士生导师,博士。研究方向:中药质量控制与品质评价。E-mail: 13851496828@163.com

素甲、贝母素乙的高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)含量测定,缺少其余药味的定性和定量分析,难以全面评价该制剂的质量^[1]。方中防风具有祛风、解表、胜湿、止痉之功效,其所含色原酮类化合物(如升麻素苷和5-O-甲基维斯阿米醇苷)是全方发挥解热镇痛和抗炎作用的主要活性成分^[2-4];枳壳具有理气宽中、行滞消胀等功效,柚皮苷和新橙皮苷是其代表性成分^[5-6];芒果苷为知母的主要活性成分,具有清热泻火、滋阴润燥的功效^[7-8];白芷的主要成分为欧前胡素和异欧前胡素,具有解表散寒,祛风止痛、消肿排脓之功效,临床上多用于抗炎、镇痛^[9]。鉴于此,本课题组按照国家药典委员会国家药品标准提高研究课题(No. YBZ08332006-2015)任务书有关要求,在现行质量标准的基础上,采用TLC法对扭伤归胶囊中白芷、知母进行定性鉴别,并运用HPLC法测定其中芒果苷、升麻素苷、柚皮苷、新橙皮苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷5种成分的含量,使其质量可控性更强、检验标准更加全面和完善,为综合评价该制剂质量提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括1260 Infinity II型HPLC仪及配备的二极管阵列检测器(美国Agilent公司)、BS21S型电子天平(德国Sartorius公司)、XP6型电子天平(瑞士Mettler Toledo公司)、KH-700TDB型高频数控超声波清洗器(昆山禾创超声仪器有限公司)、VISUALIZER型TLC数码成像仪(瑞士Camag公司)等。

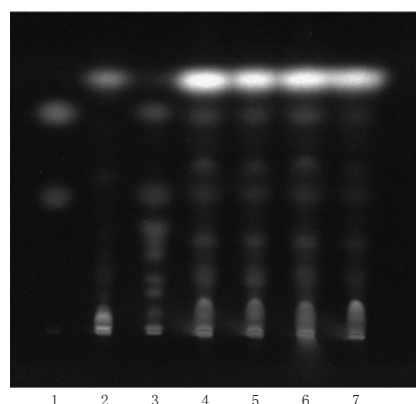
1.2 主要药品与试剂

扭伤归胶囊(批号分别为181101、190901、190902、210481,规格均为每粒装0.5 g)以及缺白芷阴性对照样品、缺知母阴性对照样品、缺防风阴性对照样品、缺枳壳阴性对照样品均由无锡济民可信山禾药业股份有限公司提供;升麻素苷对照品(批号111522-201712,纯度94.6%)、5-O-甲基维斯阿米醇苷对照品(批号111523-201811,纯度97.4%)、柚皮苷对照品(批号110722-201815,纯度91.7%)、新橙皮苷对照品(批号111857-201703,纯度99.4%)、芒果苷对照品(批号111607-201704,纯度98.1%)、欧前胡素对照品(批号110826-201616,纯度99.6%)、异欧前胡素对照品(批号110827-201812,纯度99.6%)、白芷对照药材(批号120945-201510,供鉴别使用)、知母对照药材(批号121070-201806,供鉴别使用)均购自中国食品药品检定研究院;硅胶G薄层板(规格100 mm×100 mm)购自青岛海洋化工有限公司;聚酰胺薄膜(规格10 cm×20 cm)购自浙江省台州市路桥四甲生化塑料厂;甲醇和磷酸均为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 TLC鉴别

2.1.1 白芷药材的TLC鉴别 取扭伤归胶囊内容物适量,混匀,研细,取2 g,加乙醚10 mL,浸泡1 h并时时振摇,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。取缺白芷阴性对照样品,按上述方法操作,制成缺白芷阴性对照溶液。另取白芷对照药材粉末(过三号筛)0.5 g,按上述方法操作,制成白芷对照药材溶液。再分别取欧前胡素、异欧前胡素对照品适量,加乙酸乙酯溶解、稀释,制成质量浓度均为2 mg/mL的混合对照品溶液。按照2020年版《中国药典》(四部)通则“0502薄层色谱法”相关要求^[10],吸取欧前胡素、异欧前胡素混合对照品溶液,缺白芷阴性对照溶液,白芷对照药材溶液,供试品溶液各4 μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以石油醚(30~60 ℃)-乙醚(3:2, V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置于紫外光灯(365 nm)下检视,结果见图1。由图1可见,供试品色谱中,在与白芷对照药材色谱和欧前胡素、异欧前胡素混合对照品色谱相应的位置上,均显相同颜色的荧光斑点,且缺白芷阴性对照无干扰。

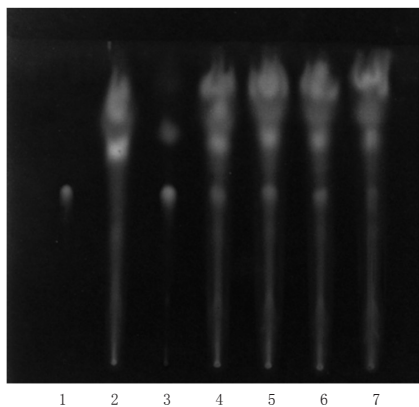


1:欧前胡素、异欧前胡素混合对照品;2:缺白芷阴性对照;3:白芷对照药材;4~7:供试品(批号分别为181101、190901、190902、210481)

图1 白芷药材的TLC图

2.1.2 知母药材的TLC鉴别 取扭伤归胶囊内容物适量,混匀,研细,取2 g,加稀乙醇10 mL,超声(功率250 W,频率40 kHz)处理20 min,过滤,取续滤液作为供试品溶液。取缺知母阴性对照样品,按上述方法操作,制成缺知母阴性对照溶液。另取知母对照药材粉末(过三号筛)0.5 g,按上述方法操作,制成知母对照药材溶液。再取芒果苷对照品适量,加稀乙醇溶解、稀释,制成质量浓度为0.5 mg/mL的对照品溶液。按照2020年版《中国药典》(四部)通则“0502薄层色谱法”相关要求^[10],吸取芒果苷对照品溶液、缺知母阴性对照溶液、知母对照药材溶液、供试品溶液各1 μL,分别点于同一聚酰胺薄膜上,以乙醇-水(3:1, V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置于紫外光灯(365 nm)下检视,结果见图2。由图2可见,供试品色谱中,在与知

母对照药材色谱和芒果苷对照品色谱相应的位置上,均显相同颜色的荧光斑点,且知母阴性对照无干扰。



1: 芒果苷对照品; 2: 缺知母阴性对照; 3: 知母对照药材; 4~7: 供试品(批号分别为181101、190901、190902、210481)

图2 知母药材的TLC图

2.2 含量测定

2.2.1 混合对照品贮备溶液的制备 取芒果苷、升麻素苷、柚皮苷、新橙皮苷、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷对照品各适量,加50%甲醇制成质量浓度分别为127.63、107.84、848.96、628.90、216.62 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品贮备溶液,备用。

2.2.2 供试品溶液的制备 取扭伤归胶囊内容物适量,研细,混匀,取约1.0 g,精密称定,置于25 mL量瓶中,加50%甲醇20 mL,超声(功率250 W,频率40 kHz)处理30 min,放冷,加50%甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 分别取缺防风、缺知母、缺枳壳阴性对照样品各1.0 g,按照“2.2.2”项下方法操作,制成相应的阴性对照溶液。

2.2.4 色谱条件 以Agela Durashell C₁₈(4.6 mm×250 mm,5 μm)为色谱柱,以甲醇(A)-0.1%磷酸溶液(B)为流动相进行梯度洗脱(0~5 min,20%A;5~15 min,20%A→33%A;15~36 min,33%A→45%A;36~50 min,45%A→55%A;50~55 min,55%A→70%A;55~60 min,70%A→20%A);流速为1.0 mL/min;柱温为35 $^{\circ}\text{C}$;检测波长为254 nm(芒果苷、升麻素苷、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷)、280 nm(柚皮苷、新橙皮苷);进样量为10 μL 。

2.2.5 专属性考察 分别吸取“2.2.1”~“2.2.3”项下混合对照品贮备溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各10 μL ,按“2.2.4”项下色谱条件进样测定,记录色谱图,详见图3。由图3可见,在该色谱条件下,供试品溶液的理论板数按芒果苷、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷峰计均不低于10 000,相邻色谱峰间的分离度均大于1.5;同时,供试品色谱中,在与对照品色谱相同保留时间处检出色谱峰,方中其他成分对芒果苷、升麻素苷、柚皮苷、新橙皮苷、

5-*O*-甲基维斯阿米醇苷的测定均无干扰。

2.2.6 线性关系考察 取“2.2.1”项下混合对照品贮备溶液,用50%甲醇稀释,制成芒果苷质量浓度分别为7.98、15.95、31.91、63.81、127.63 $\mu\text{g/mL}$,升麻素苷质量浓度分别为6.74、13.48、26.96、53.92、107.84 $\mu\text{g/mL}$,柚皮苷质量浓度分别为53.06、106.12、212.24、424.45、848.96 $\mu\text{g/mL}$,新橙皮苷质量浓度分别为39.31、78.61、157.23、314.45、628.90 $\mu\text{g/mL}$,5-*O*-甲基维斯阿米醇苷质量浓度分别为13.54、27.08、54.15、108.31、216.62 $\mu\text{g/mL}$ 的系列混合对照品溶液,按“2.2.4”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测成分的峰面积(y)为纵坐标、质量浓度(x)为横坐标进行回归分析,得回归方程,结果见表1。

2.2.7 检测限和定量限考察 取“2.2.6”项下最低质量浓度的混合对照品溶液,用50%甲醇逐级稀释,按照“2.2.4”项下色谱条件进样测定,以信噪比10:1测得定量限,以信噪比3:1测得检测限。结果显示,芒果苷、升麻素苷、柚皮苷、新橙皮苷、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷的定量限分别为0.06、0.16、0.18、0.16、0.24 $\mu\text{g/mL}$,检测限分别为0.02、0.05、0.05、0.05、0.07 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.2.8 精密度试验 取“2.2.6”项下芒果苷、升麻素苷、柚皮苷、新橙皮苷、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷质量浓度分别为31.91、26.96、212.24、157.23、54.15 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液,按照“2.2.4”项下色谱条件重复进样测定6次,记录峰面积。结果显示,芒果苷、升麻素苷、柚皮苷、新橙皮苷、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷峰面积的RSD分别为0.40%、0.42%、0.30%、0.31%、0.26% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.2.9 稳定性试验 取“2.2.2”项下供试品溶液(批号181101),分别于室温下放置0、2、4、8、12、24 h时按照“2.2.4”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果显示,芒果苷、升麻素苷、柚皮苷、新橙皮苷、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷峰面积的RSD分别为0.24%、1.20%、0.20%、0.25%、1.15% ($n=6$),表明供试品溶液在室温下放置24 h内稳定性良好。

2.2.10 重复性试验 精密称取扭伤归胶囊(批号181101)内容物1.0 g,共6份,分别按照“2.2.2”项下方法制成供试品溶液,再按照“2.2.4”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并代入回归方程计算各成分的含量。结果显示,芒果苷、升麻素苷、柚皮苷、新橙皮苷、5-*O*-甲基维斯阿米醇苷的平均含量分别为0.974、0.673、6.504、4.577、1.181 mg/g, RSD分别为1.03%、0.27%、0.38%、0.39%、0.36% ($n=6$),表明方法重复性良好。

2.2.11 加样回收率试验 称取已知含量的扭伤归胶囊(批号181101)内容物约0.5 g,精密称定,共6份,分别置于25 mL量瓶中,加入芒果苷、升麻素苷、柚皮苷、新

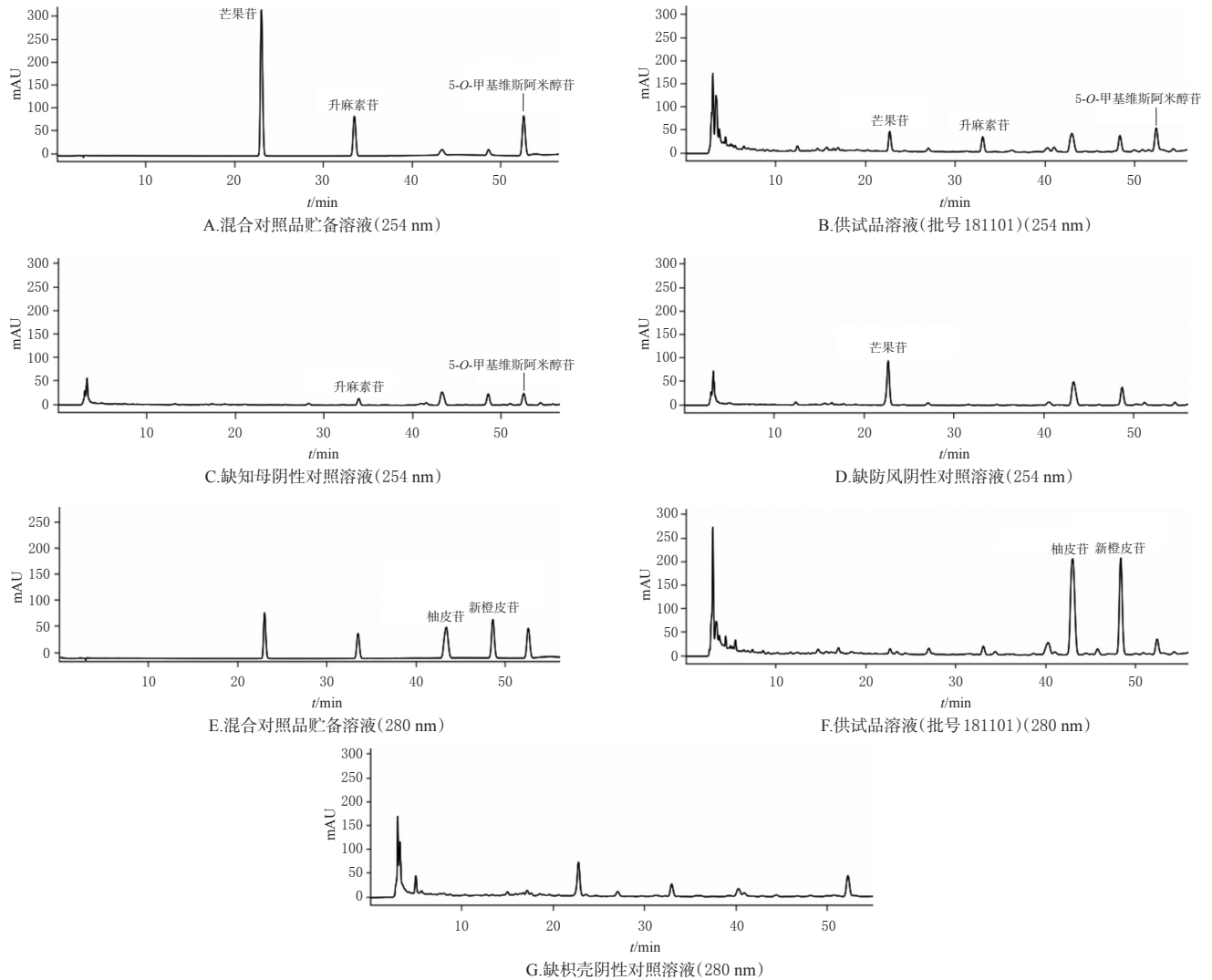


图3 扭伤归胶囊定量分析的HPLC图

表1 芒果苷等5种成分的回归方程与线性范围

成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/($\mu\text{g/mL}$)
芒果苷	$y=45\,044.29x-7.40$	0.999 9	7.98~127.63
升麻素苷	$y=18\,846.54x+1.88$	0.999 9	6.74~107.84
柚皮苷	$y=19\,281.90x+42.84$	0.999 9	53.06~848.96
新橙皮苷	$y=19\,207.73x+26.42$	0.999 9	39.31~628.90
5-O-甲基维斯阿米醇苷	$y=19\,394.95x+4.39$	0.999 9	13.54~216.62

橙皮苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷质量浓度分别为0.516 6、0.311 7、3.175 5、2.324 7、0.546 9 mg/mL的混合对照品溶液(配制方法同“2.2.1”项)1 mL,按照“2.2.2”项下方法制成供试品溶液,再按照“2.2.4”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表2。

2.2.12 样品含量测定 取4批扭伤归胶囊样品适量,分别按照“2.2.2”项下方法制成供试品溶液,再按照“2.2.4”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并代入回归方程计算各成分的含量,重复测定2次,计算平均值,结果见表3。

2.3 限度确定

由表3可见,4批扭伤归胶囊中芒果苷、升麻素苷、柚皮苷、新橙皮苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷的平均含量分别为0.842、0.696、6.951、5.755、1.106 mg/g。根据芒果苷转移率=成药中芒果苷的含量/(知母中芒果苷的含量 \times 知母的处方量) \times 100%计算,得芒果苷的转移率最低为9.8%、最高为21.8%,平均值为18.8%。暂将芒果苷的限度设定为知母最低含量 \times 处方量 \times 平均转移率,即0.42 mg/粒,综合考虑,扭伤归胶囊含知母以芒果苷($\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_{11}$)计不得少于0.42 mg/粒。同上,扭伤归胶囊含防风以升麻素苷($\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$)和5-O-甲基维斯阿米醇苷($\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_{10}$)总量计不得少于0.90 mg/粒,含枳壳以柚皮苷($\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{O}_{14}$)和新橙皮苷($\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_{15}$)总量计不得少于6.36 mg/粒。

3 讨论

3.1 药材的选择

扭伤归胶囊原质量标准YBZ08332006有3项理化鉴别,但方法专属性较差,在现行质量标准YBZ08332006-

表2 芒果苷等5种成分的加样回收率试验结果(n=6)

成分	取样量/ g	已知量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	加样回收率/ %	平均加样回 收率/%	RSD/ %
芒果苷	0.507 0	0.493 8	0.516 6	0.983 2	94.73	95.00	0.52
	0.507 4	0.494 2	0.516 6	0.985 0	95.01		
	0.507 4	0.494 2	0.516 6	0.982 5	94.52		
	0.507 9	0.494 7	0.516 6	0.989 5	95.78		
	0.507 2	0.494 0	0.516 6	0.982 5	94.56		
升麻素苷	0.507 5	0.494 3	0.516 6	0.987 0	95.37	105.16	1.32
	0.507 0	0.341 2	0.311 7	0.676 8	107.67		
	0.507 4	0.341 5	0.311 7	0.671 3	105.81		
	0.507 4	0.341 5	0.311 7	0.667 9	104.72		
	0.507 9	0.341 8	0.311 7	0.667 5	104.49		
柚皮苷	0.507 2	0.341 3	0.311 7	0.665 2	103.91	97.16	0.42
	0.507 5	0.341 5	0.311 7	0.666 7	104.33		
	0.507 0	3.297 5	3.175 5	6.392 4	97.46		
	0.507 4	3.300 1	3.175 5	6.378 0	96.93		
	0.507 4	3.300 1	3.175 5	6.382 5	97.07		
新橙皮苷	0.507 9	3.303 4	3.175 5	6.379 8	96.88	101.00	0.77
	0.507 2	3.298 8	3.175 5	6.372 3	96.79		
	0.507 5	3.300 8	3.175 5	6.407 9	97.85		
	0.507 0	2.320 5	2.324 7	4.670 5	101.09		
	0.507 4	2.322 4	2.324 7	4.694 8	102.05		
5-O-甲基维斯阿米醇苷	0.507 4	2.322 4	2.324 7	4.646 4	99.97	104.97	1.50
	0.507 9	2.324 7	2.324 7	4.663 2	100.59		
	0.507 2	2.321 5	2.324 7	4.659 7	100.58		
	0.507 5	2.322 8	2.324 7	4.688 0	101.74		
	0.507 0	0.598 8	0.546 9	1.163 8	103.31		
	0.507 4	0.599 2	0.546 9	1.160 8	102.69		
	0.507 4	0.599 2	0.546 9	1.175 5	105.38		
	0.507 9	0.599 8	0.546 9	1.178 6	105.83		
	0.507 2	0.599 0	0.546 9	1.179 4	106.13		
	0.507 5	0.599 4	0.546 9	1.181 7	106.47		

表3 4批扭伤归胶囊中芒果苷等5种成分的含量测定结果(n=2, mg/g)

批次	芒果苷	升麻素苷	柚皮苷	新橙皮苷	5-O-甲基维斯阿米醇苷
181101	0.974	0.673	6.504	4.577	1.181
190901	0.980	0.694	6.600	4.616	1.185
190902	0.967	0.689	6.549	4.578	1.174
210481	0.448	0.728	8.149	9.249	0.885
平均值	0.842	0.696	6.951	5.755	1.106

2015中已被删除,增加了红花的TLC鉴别,对知母、天南星(制)、白芷未涉及。本研究在现行质量标准的基础上,增加了知母和白芷的TLC鉴别,同时采用HPLC法对防风、枳壳、知母进行了含量测定,以达到同时控制方中不同药味的目的,为进一步提高扭伤归胶囊的质量标准提供参考。

3.2 TLC鉴别药材和方法的选择

扭伤归胶囊由9味药组成,成分复杂,现行标准质控不够全面,缺少白芷、知母、天南星(制)等关键药味的质控项目,故十分有必要建立上述药材的TLC鉴别方法以控制药品的整体质量。本研究参考2020年版《中国药典》(一部)“白芷”“知母”鉴别项下的方法建立了扭伤归胶囊中这两味药的TLC鉴别方法^[11]。结果显示,供试品色谱中,与对照药材和(混合)对照品色谱相应位置上均

显相同颜色的斑点,且阴性对照无干扰。在方法学研究中,笔者比较了不同厂家的薄层板以及在不同温度、不同湿度下的展开情况,结果表明,各色谱斑点及分离度均符合2020年版《中国药典》(四部)通则“0502薄层色谱法”的相关要求^[10],且耐用性良好。此外,本课题组还对天南星(制)进行了TLC鉴别研究,但阴性对照有干扰,经过多次实验后仍未能找到适宜的展开条件,故未将其TLC鉴别方法列入正文中。

3.3 HPLC流动相的选择

通过查阅相关文献^[12-15],本课题组考察了甲醇-0.1%醋酸溶液、甲醇-0.1%磷酸溶液、乙腈-0.2%醋酸溶液3种流动相系统的分离效果。结果显示,以甲醇-0.1%磷酸溶液为流动相时,5种待测成分的出峰时间、峰形及峰纯度最优,故采用甲醇-0.1%磷酸溶液作为流动相。

3.4 HPLC检测波长的选择

本课题组前期采用二极管阵列检测器进行全波长扫描,发现芒果苷、升麻素苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷在254 nm波长处有最大吸收,柚皮苷、新橙皮苷在280 nm波长处有最大吸收,故选择254、280 nm作为检测波长。

3.5 HPLC供试品溶液提取条件的选择

本课题组前期分别考察了超声、冷浸、加热回流等不同提取方式的提取效果,结果表明,超声处理的提取效果最好,故最终确定以超声作为供试品溶液的提取方式。本课题组前期还考察了提取溶剂(50%甲醇、70%甲醇、乙醇、正丁醇)、超声时间(20、30、50 min)、取样量(1.0、2.0、4.0 g)对提取效果的影响,结果显示,取1 g样品加50%甲醇超声提取30 min的效果最好。

3.6 不足

本方中天南星(制)为有毒中药,在实验设计中有TLC鉴别和含量测定研究内容。但在TLC鉴别研究中,本课题组尝试了多种供试品溶液制备方法:60%乙醇超声处理、甲醇超声处理、乙醇冷浸处理、乙醇加热回流、石油醚索氏提取等;同时,本课题组也尝试了多种展开剂和显色剂,均未得到理想结果[未找到天南星(制)的特征斑点]。此外,本课题组还尝试采用HPLC法对天南星(制)进行鉴别和含量测定研究,但均未能找到特征峰。鉴于此,此次标准提升未涉及天南星(制)相关检验项目。

本课题组在前期实验中设计了当归指标性成分阿魏酸的含量测定项,但实验结果显示,阿魏酸的含量较低,色谱峰响应极弱且阴性对照有干扰,虽反复优化供试品溶液的制备方法和色谱条件,仍未能消除阴性对照的干扰,考虑到现行质量标准已收载当归的TLC鉴别项,故此次多成分含量测定未纳入阿魏酸。

综上所述,本研究在扭伤归胶囊现行质量标准的基础上,增加了白芷、知母的TLC鉴别项,扩展了含量测定项的指标性成分,建立了可同时测定扭伤归胶囊中芒果

苷、升麻素苷、柚皮苷、新橙皮苷、5-O-甲基维斯阿米醇苷含量的新方法。但由于本研究样品批次偏少(只有4批),后期将进一步积累数据,在此基础上制订上述各成分的合理含量限度。

参考文献

[1] 国家食品药品监督管理总局.国家药品标准 YBZ08332006-2015[S].2015-10-01.

[2] 曹思思,史磊,孙佳琳,等.防风的化学成分及药理作用研究进展[J].现代中药研究与实践,2021,35(1):95-102.

[3] 陈雨秋,张涛,陈长宝,等.防风的化学成分、提取工艺及药理作用研究进展[J].江苏农业科学,2021,49(9):43-48.

[4] 张丹,木盼盼,郭梅,等.基于防风皮部和木部色原酮含量差异探讨抽毫防风的药用价值[J].中国中药杂志,2019,44(18):3948-3953.

[5] 龚斌,李琴,胡小红,等.枳壳化学成分及药理作用研究进展[J].南方林业科学,2019,47(3):40-45.

[6] 袁汉文,李琳,吕梦颖,等.基于薄层色谱的枳实与其混伪品鉴别研究[J].湖南中医药大学学报,2021,41(10):1534-1539.

[7] 翁丽丽,陈丽,宿莹,等.知母化学成分和药理作用[J].吉

林中医药,2018,38(1):90-92.

[8] 张宇伟,赵云芳,商婷婷,等.中药知母化学成分研究[J].亚太传统医药,2017,13(11):16-18.

[9] 吉庆,马宇衡,张焯.白芷的化学成分及药理作用研究进展[J].食品与药品,2020,22(6):509-514.

[10] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].2020年版.北京:中国医药科技出版社,2020:59-60.

[11] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2020年版.北京:中国医药科技出版社,2020:109,222.

[12] 王昱官,元伟,王璇.上清丸(水丸)白芷薄层色谱鉴别方法研究[J].广东化工,2016,43(7):51,27.

[13] 田芳,谭梓君,何小芳,等.枳壳饮片标准汤剂质量评价研究[J].中国现代应用药学,2021,38(1):42-48.

[14] 游黔平,何羽.独活痛风贴膏的薄层色谱鉴别研究[J].北方药学,2015,12(7):1.

[15] 南易,郑伟,马凤霞,等. HPLC-CAD 同时测定知母中芒果苷和知母皂苷 B II 的含量[J].药物分析杂志,2021,41(1):111-116.

(收稿日期:2021-12-06 修回日期:2022-02-10)

(编辑:邹丽娟)

(上接第717页)

[3] 陈琳,朱靖,王嵩,等.当归主要活性成分提取方法及其活性研究进展[J].上海医药,2021,42(9):71-75.

[4] 袁胜男,袁冲,毛志海,等.基于网络药理学对乌药汤治疗原发性痛经作用机制的研究[J].中国医院药学杂志,2020,40(10):1116-1121.

[5] 程媛,忻晓东,彭安堂,等.基于 GC-MS 指纹图谱及多成分含量测定对经典名方乌药汤物质基准质量评价研究[J].中国现代应用药学,2021,38(23):2978-2984.

[6] 伍振峰,王赛君,杨明,等.中药挥发油提取工艺与装备现状及问题分析[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(14):224-228.

[7] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2020年版.北京:中国医药科技出版社,2020:57-241, XVI.

[8] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].2020年版.北京:中国医药科技出版社,2020:233-234,480-483.

[9] 李佳佳,郑鹏,顿佳颖,等.荆芥与连翘混合挥发油提取工艺优化[J].中国药房,2019,30(6):813-817.

[10] 朱登辉,张靖柯,李孟,等. Box-Behnken 设计-响应面法优化山茱萸叶总三萜提取工艺[J].中国药房,2021,32(1):46-50.

[11] 张志瑞,李喜香,李盛华,等.祛寒逐风颗粒中挥发油提取工艺和包合工艺优化[J].中国药房,2019,30(2):192-196.

[12] 田帅,汪海涛,姜琰,等.结合聚类分析与信息熵赋权的构件选择方法[J].计算机与数字工程,2017,45(12):2437-2441,2551.

[13] 陈云翔,董骁雄,项华春,等.基于信息熵的群组聚类组合赋权法[J].中国管理科学,2015,23(6):142-146.

[14] 武玉,周梦鸽,文甜甜,等.基于挥发油出油量的逍遥片提取工艺优化及挥发性成分研究[J].现代中药研究与实践,2019,33(6):40-45.

[15] 郑鹏,李佳佳,顿佳颖,等.基于响应面法与信息熵法优选枳壳、醋香附总挥发性成分提取工艺[J].中国现代应用药学,2019,36(12):1522-1528.

[16] 邓桂明,向彪,肖小芹,等.基于网络药理学的乌药主要化学成分药效作用研究[J].中草药,2018,49(21):5125-5133.

[17] 邢梦雨,田崇梅,夏道宗.乌药化学成分及药理作用研究进展[J].天然产物研究与开发,2017,29(12):2147-2151.

[18] 晏润纬,彭小梅.乌药挥发油的化学成分及药理作用[J].时珍国医国药,2014,25(11):2747-2749.

[19] 郭慧玲,骆云霞,胡律江,等.四制香附贴膏灸剂在大鼠体内的血液流变性分析与体外透皮特性分析[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(11):29-33.

[20] 胡栋宝,陆卓东,伍贤学.中药香附子化学成分及药理活性研究进展[J].时珍国医国药,2017,28(2):430-432.

[21] 柳小莉,黄小英,张小飞,等.基于 GC-MS 成分分析结合网络药理学预测当归挥发油质量标志物(Q-Marker)[J].中草药,2021,52(9):2696-2706.

[22] 吴国泰,王瑞琼,杜丽东,等.当归挥发油药理作用研究进展[J].甘肃中医药大学学报,2018,35(4):87-92.

(收稿日期:2021-09-27 修回日期:2022-02-24)

(编辑:邹丽娟)