

香枫舒颗粒的质量标准研究

易廷平^{1*}, 谭安军²(1.重庆市永川区人民医院, 重庆 402160; 2.重庆市永川区中医院, 重庆 402160)

中图分类号 R283.627; R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)23-2177-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.23.23

摘要 目的:建立香枫舒颗粒的质量标准。方法:采用薄层色谱(TLC)法定性鉴别香枫舒颗粒中白术、金钱草、广藿香;用高效液相色谱法测定广藿香中毛蕊花糖苷的含量。结果:TLC斑点清晰、分离度好,阴性对照无干扰。毛蕊花糖苷的进样量在0.042~0.350 μg 范围内与其峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.999\ 9$);精密度、稳定性、重复性试验的RSD均 $<1\%$;平均加样回收率为98.40%,RSD=0.66%($n=9$)。结论:所建标准可用于香枫舒颗粒的质量控制。

关键词 香枫舒颗粒;质量标准;白术;金钱草;广藿香;毛蕊花糖苷;薄层色谱法;高效液相色谱法

Study on Quality Standard of Xiangfengshu Granules

YI Ting-ping¹, TAN An-jun²(1.The People's Hospital of Yongchuan District, Chongqing 402160, China; 2. Yongchuan District Hospital of TCM, Chongqing 402160, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard of Xiangfengshu granules. METHODS: TLC method was used to qualitatively identify *Atractylodes macrocephala*, *Lysimachia christinae*, *Pogostemon cablin*; the content of verbascoside in *P. cablin* was determined by HPLC. RESULTS: TLC spots were fairly clear and well-separated without interference from negative control. The linear range of verbascoside was 0.042-0.35 μg ($r=0.999\ 9$) with average recovery of 98.40% (RSD=0.66%, $n=9$). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 1%. CONCLUSIONS: Established standard is suitable for the quality control of Xiangfengshu granules.

KEY WORDS Xiangfengshu granules; Quality standard; *Atractylodes macrocephala*; *Lysimachia christinae*; *Pogostemon cablin*; Verbascoside; TLC; HPLC

香枫舒颗粒来源于重庆永川区人民医院临床验方,由广藿香、白术、牛耳枫、金钱草等药材组成,具有除湿、化滞、理气的功效,对气滞湿困而致的急性胃肠炎及其所引起的腹胀、腹痛等消化不良症状有确切的治疗作用。香枫舒颗粒为传统煎剂改剂型而成的颗粒剂,为有效控制其质量,笔者采用薄层色

谱(TLC)法定性鉴别方中白术、金钱草、广藿香,并采用高效液相色谱(HPLC)法测定广藿香中有效成分毛蕊花糖苷的含量。

1 材料

1.1 仪器

LC-CLASS VP型HPLC仪(日本岛津公司);薄层成色

且干扰峰较少,易于定量分析。

3.2 流动相的选择

本试验分别对0.1%磷酸水溶液-甲醇、0.1%磷酸水溶液-乙腈、0.6%磷酸水溶液-乙腈3种流动相体系进行了考察。结果表明,以0.6%磷酸水溶液-乙腈为流动相体系进行梯度洗脱,能够获得较好的分离效果。

3.3 检测波长的选择

笔者通过对对照品溶液进行紫外扫描,并参考相关文献^[7]结果,选择360 nm作为检测波长。

3.4 小结

本试验所建方法准确、简便,具有良好的重复性和稳定性,可作为鹅绒藤中小麦黄酮-7-O- β -D-葡萄糖醛酸苷和紫云英苷的含量测定方法。

参考文献

*主管中药师。研究方向:药品质量及药事管理。电话:023-49571929。E-mail:734209743@qq.com

- [1] 苟占平,杨永建,赵汝能.甘肃鹅绒藤属药用植物资源调查[J].中草药,2001,32(1):69.
- [2] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会.中国植物志:第63卷[M].北京:科学出版社,1977:314.
- [3] 彭晓东,闫乾顺,闫琳,等.鹅绒藤对小鼠抗惊厥作用的观察[J].第四军医大学学报,2009,30(4):340.
- [4] 彭晓东,闫乾顺,王锐,等.鹅绒藤对小鼠镇静催眠作用的研究[J].中国中药杂志,2007,32(17):1174.
- [5] Yin JG, Yuan CS, Jia ZJ. A new iridoid and other chemical constituents from *Pedicularis kansuensis* forma albiflora Li. [J]. Arch Pharm Res, 2007, 30(4): 431.
- [6] 翁裕馨,刘占厚,陈湘宏.达乌里胡枝子化学成分研究[J].安徽农业科学,2011,39(25):15281.
- [7] 付远清,莫逢伟,廖厚知.HPLC法测定星宿菜中山柰酚的含量[J].中国药房,2012,23(15):1049.

(收稿日期:2012-07-09 修回日期:2012-08-28)

谱仪(瑞士卡玛公司);KQ-50B型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

香枫舒颗粒(批号:121101、121102、121103)及缺白术、缺金钱草、缺广藿香的阴性样品均由重庆永川区人民医院自制;毛蕊花糖苷对照品(批号:111530-200706,供含量测定用)与白术(批号:120925-200407)、金钱草(批号:121187-200302)、广藿香(批号:121135-200904,供鉴别用)对照药材均购自中国食品药品检定研究院;硅胶G板(山东乳山市上邦化工有限公司);乙腈为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别

2.1.1 白术的TLC鉴别^[1-3] 取本品适量,研细,取约4.0 g,加水60 ml使溶解,用乙醚提取2次,每次40 ml,合并乙醚提取液,蒸干,残渣加乙酸乙酯1 ml使溶解,作为供试品溶液;另取白术对照药材1 g,加40 ml乙醚超声(功率:50 W,频率:40 kHz)提取30 min,滤过,滤液挥干,残渣加乙酸乙酯2 ml使溶解,作为对照药材溶液;再取缺白术的阴性样品4.0 g,同法制成缺白术阴性对照溶液。吸取上述3种溶液各10 μ l,分别点于同一硅胶G薄层板上,以石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)-乙酸乙酯(4:2, V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以5%硫酸乙醇溶液,于105 $^{\circ}$ C加热5 min,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果,供试品色谱在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点;阴性对照无干扰。白术的TLC图见图1。

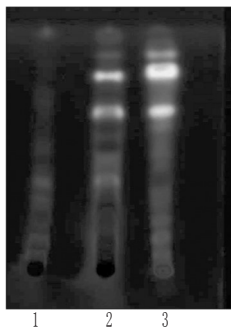


图1 白术的TLC图

1.缺白术的阴性对照;2.供试品;3.白术对照药材

Fig 1 TLC of *Atractylodes macrocephala*

1.negative control without *A. macrocephala*; 2.test sample; 3. *Atractylodes Macrocephalae* Rhizoma reference substance

2.1.2 金钱草的TLC鉴别^[4-5] 取本品适量,研细,取约5.0 g,加水60 ml使溶解,用三氯甲烷提取2次,每次50 ml,合并三氯甲烷提取液,挥干,残渣加乙酸乙酯1 ml使溶解,作为供试品溶液;另取金钱草对照药材1.0 g,加水30 ml,回流提取1 h,滤过,同法制成对照药材溶液;再取缺金钱草的阴性样品5.0 g,同法制成缺金钱草阴性对照溶液。吸取上述3种溶液各10 μ l,分别点于同一硅胶G薄层板上,以正己烷-乙酸乙酯(4:1, V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果,供试品色谱在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点;阴性对照无干扰。金钱草的TLC图见图2。

2.1.3 广藿香的TLC鉴别 取本品适量,研细,取约3.0 g,加甲醇50 ml,超声(功率:50 W,频率:40 kHz)提取40 min,滤过,滤液挥干,残渣加乙醇2 ml使溶解,作为供试品溶液;另取广藿香对照药材1 g,加甲醇30 ml,同法制成对照药材溶液;再取

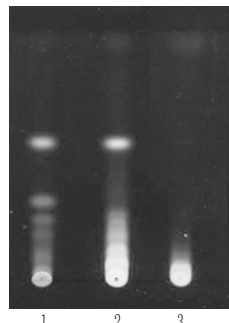


图2 金钱草的TLC图

1.金钱草对照药材;2.供试品;3.缺金钱草的阴性对照

Fig 2 TLC of *Lysimachia christinae*

1. *Lysimachiae* Christinae reference substance; 2. test sample; 3. negative control without *L. christinae*

缺广藿香的阴性样品3.0 g,同法制成缺广藿香阴性对照溶液。吸取上述3种溶液各5 μ l,分别点于同一硅胶G薄层板上,以石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)-乙酸乙酯(5:2, V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以2%三氯化铝乙醇溶液,于100 $^{\circ}$ C加热3 min,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果,供试品色谱在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点;阴性对照无干扰。广藿香的TLC图见图3。

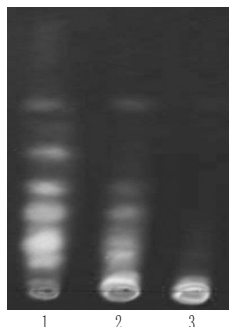


图3 广藿香的TLC图

1.广藿香对照药材;2.供试品;3.缺广藿香的阴性对照

Fig 3 TLC of *Pogostemon cablin*

1.*Pogostemonis* Herba reference substance; 2. test sample; 3. negative control without *P. cablin*

2.2 含量测定^[6-8]

2.2.1 色谱条件 色谱柱:Phenomenex C₁₈(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m);流动相:乙腈-0.1%醋酸水(14:86, V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:334 nm;柱温:30 $^{\circ}$ C。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品适量,研细,取约1.5 g,精密称定,精密加入甲醇50 ml,超声(功率:100 W,频率:40 kHz)处理40 min,放冷,再次称定,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液10 ml,蒸干,残渣加流动相使溶解并转移定容至25 ml量瓶中,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 对照品溶液的制备 精密称取毛蕊花糖苷对照品8.75 mg,置100 ml量瓶中,加甲醇使溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备液。精密量取对照品贮备液4.0 ml,置25 ml量瓶中,用流动相稀释至刻度,摇匀,即为毛蕊花糖苷对照品溶液(每1 ml含14 μ g毛蕊花糖苷)。

2.2.4 缺广藿香阴性对照溶液的制备 取不含广藿香的阴性样品适量,照“2.2.2”项下方法制备缺广藿香阴性对照溶液。

2.2.5 系统适用性试验 精密吸取对照品溶液、供试品溶液

和阴性对照溶液各 10 μl,按上述色谱条件进样测定。结果,供试品色谱在与对照品色谱相应保留时间处有相同色谱峰出现,阴性对照色谱无相应色谱峰,表明阴性对照不干扰样品测定。目标峰与相邻色谱峰的分离度均>2.0;理论板数按毛蕊花糖苷色谱峰计算应不低于4 000。色谱见图4。

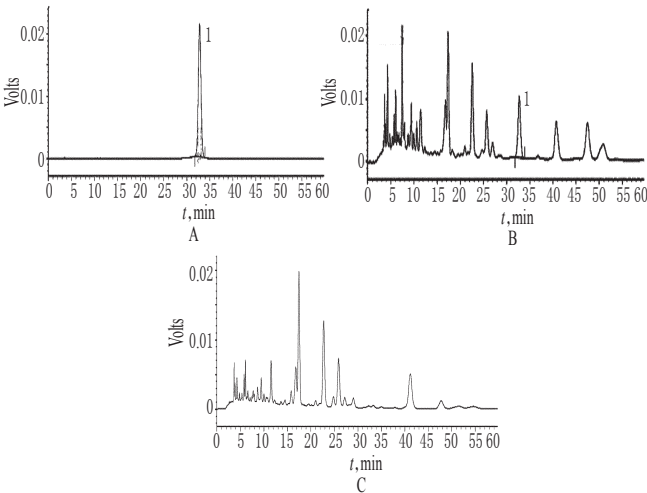


图4 高效液相色谱图

A. 毛蕊花糖苷对照品;B.供试品;C.缺广藿香的阴性对照;1.毛蕊花糖苷

Fig 4 HPLC chromatograms

A. verbascoside control;B.test sample;C. negative control without *P. cablin*; 1.verbascoside

2.2.6 线性关系考察 精密吸取毛蕊花糖苷对照品溶液3、6、9、15、25 μl,注入液相色谱仪,按上述色谱条件进样测定,记录峰面积。以毛蕊花糖苷的进样量($x, \mu\text{g}$)为横坐标,峰面积积分值(y)为纵坐标,进行线性回归,得回归方程为 $y=287\ 345.62x-7\ 714.95(r=0.999\ 9, n=5)$ 。结果表明,毛蕊花糖苷的进样量在0.042~0.350 μg范围内与其峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.2.7 精密度试验 精密吸取对照品溶液10 μl,重复进样6次,按上述色谱条件测定,记录峰面积。结果, $RSD=0.65\%$ ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.2.8 稳定性试验 取同一供试品溶液适量,分别于0、1、4、8、12 h进样测定,记录峰面积。结果, $RSD=0.77\%$ ($n=5$),表明供试品溶液在12 h内稳定性良好。

2.2.9 重复性试验 按拟定的含量测定方法,取同一批样品适量,共6份,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,照上述色谱条件进样测定,记录峰面积,以外标法计算样品中毛蕊花糖苷的含量。结果,每1 g样品平均含毛蕊花糖苷1.17 mg, $RSD=0.91\%$ ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.2.10 加样回收率试验 精密称取已知含量的同一批样品适量,共9份,每3份为一组,分别精密加入不同质量的对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,照上述色谱条件进样测定,计算加样回收率,结果见表1。

2.2.11 样品含量测定 取3批香枫舒颗粒各适量,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,照上述色谱条件进样测定,记录峰面积,以峰面积计算样品中毛蕊花糖苷的含量,每批样品平行测定3次,结果见表2。

表1 加样回收率试验结果($n=9$)

Tab 1 Results of recovery tests($n=9$)

编号	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	$\bar{x},\%$	RSD,%
1	0.871 5	0.684 0	1.549 2	99.08	98.40	0.66
2	0.865 2	0.684 0	1.537 3	98.26		
3	0.854 4	0.684 0	1.532 7	99.17		
4	0.863 8	0.855 0	1.702 2	98.06		
5	0.851 7	0.855 0	1.687 9	97.80		
6	0.873 0	0.855 0	1.713 6	97.29		
7	0.870 4	1.026 0	1.887 6	99.14		
8	0.880 2	1.026 0	1.888 7	98.29		
9	0.864 9	1.026 0	1.876 1	98.56		

表2 样品含量测定结果($n=3$)

Tab 2 Results of contents determination of samples($n=3$)

批号	含量,mg/g	RSD,%
121101	1.17	0.91
121102	1.13	0.86
121103	1.15	0.94

3 讨论

对于有广藿香入药的中药制剂,其质量控制方法多采用测定百秋李醇含量作为检测指标,但百秋李醇属于挥发性成分,而医疗机构由于受场地、设备限制等因素,收集挥发性成分存在一定的困难。毛蕊花糖苷作为广藿香中极性较大的主要成分,能够增加胃酸分泌,提高胃蛋白酶活性,显著改善胃肠消化功能^[9-10],且尚未见文献报道应用HPLC法测定广藿香制剂中毛蕊花糖苷的含量。因此,本研究建立了定性鉴别香枫舒颗粒中白术、金钱草、广藿香的TLC法,特征斑点明显,分离度好,阴性对照无干扰;并建立了测定广藿香中毛蕊花糖苷含量的方法,精密度、稳定性、重复性均符合要求。综上,所建标准可用于香枫舒颗粒的质量控制。

参考文献

[1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:附录34.

[2] 朱庄松,林建昌,王志梅.双术健脾通腑胶囊的制备及质量控制[J].中国药房,2006,17(21):1 622.

[3] 曲婷丽,邓亚宁,郝丽宏.参苓白术颗粒的薄层色谱鉴别方法研究[J].中成药,2008,30(12):附4.

[4] 罗爱勤,杜松,叶健文.肾石通颗粒的薄层鉴别研究[J].中国药品标准,2011,12(6):448.

[5] 杜勇,李琰,张小茜.金钱草质量标准的研究[J].中国中药杂志,2006,31(5):438.

[6] 陈德金,祝蔭,林朝展. HPLC法测定裸花紫珠片中毛蕊花糖苷及连翘酯苷的含量[J].中成药,2011,33(3):449.

[7] 张金凤,罗兰,安广峰.归苓益智片定性定量方法研究[J].中国实验方剂学杂志,2006,12(7):1.

[8] 张宇宏.通窍鼻炎片质量标准研究[J].中国实验方剂学杂志,2002,8(6):9.

[9] 刘琥琥,罗集鹏.广东高要与吴川产广藿香提取物对肠道致病菌抗菌作用的比较研究[J].中药材,1999,22(8):408.

[10] 陈小夏,何冰.广藿香胃肠道药理作用[J].中药材,1998,21(9):462.

(收稿日期:2013-01-30 修回日期:2013-03-22)