排石利胆颗粒质量标准研究

★ 饶艳春 匡佩琳 （江西省食品药品检验所 南昌 330029）

关键词：排石利胆颗粒；质量标准；高效液相色谱法；薄层色谱法
中图分类号：R 284.1 **文献标识码**：B

排石利胆颗粒由柴胡（醋炙）、龙胆、赤芍、大黄等十味中药组成，具有舒肝理气、利胆排石的功能，用于治疗胆囊炎、胆石症，收载于卫生部药品标准中药成方制剂第二十册，原标准中无薄层鉴别及含量测定项，为保证产品质量可控性，现用薄层色谱（TLC）法鉴别柴胡、龙胆、赤芍、大黄，用高效液相色谱（HPLC）法测定龙胆中的龙胆苦苷的含量[1]，现报道如下。

1 仪器与试药

Sartorius BS210S 全自动电子天平；Waters1525 二元梯度高压泵系列，2487 紫外检测器，Breeze 色谱管理系统。龙胆苦苷对照品（批号为 0770-200106），柴胡对照药材（批号为 0992-200001），芍药苷对照品（批号为 110736-200320），大黄对照药材（批号为 902-9103），均购自中国药品生物制品检定所，乙腈为色谱纯。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

柴胡：取本品 10 g，研细，加甲醇 30 mL，加热回流 30 分钟，滤过，滤液蒸干，残渣加水 20 mL 溶解，用水饱和正丁醇液提取 2 次，每次 20 mL，合并正丁醇提取液，用 5% 碳酸氢钠溶液 30 mL 洗涤，分取正丁醇液，蒸干，残渣加甲醇 2 mL 使溶解，作为供试品溶液，同法制得缺柴胡药材的阴性对照品溶液。另取柴胡对照药材 1 g，加水 50 mL，加热微沸 2 小时，滤过，滤液用乙醚振摇提取 2 次，每次 20 mL，弃去乙醚液，再用水饱和的正丁醇提取 2 次，每次 20 mL，合并正丁醇液，照供试品溶液的制备方法制得对照药材溶液。照薄层色谱法（中国药典 2005 版一部附录 VIB）试验，吸取上述两种溶液各 10 ul，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以醋酸乙酯-甲醇-水（16∶3∶2）为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 4% 对二甲氨基苯甲醛的硫酸乙醇溶液（1→10），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，且阴性对照无干扰。

龙胆：取本品 20 g，研细，加醋酸乙酯 30 mL，超声处理 30 分钟，滤过。滤液蒸干，残渣加甲醇 1 mL 使其溶解作为供试品溶液，同法制得缺龙胆药材的阴性对照品。另取龙胆苦苷对照品适量，用甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液，作为对照品溶液。照薄层色谱法（中国药典 2005 版一部附录 VIB）试验，吸取对照品溶液 10 μL，供试品溶液 20 μL，分别点于同一硅胶 GF254 薄层板上，以三氯甲烷-甲醇-水（30∶10∶3）的下层为展开剂，展开，取出，晾干，置 254 nm 紫外光灯下检视。供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点，且阴性对照无干扰。

赤芍：取本品 10 g，加乙醇 40 mL，加热回流 30 分钟，滤过，滤液蒸干，残渣加水 15 mL 使溶解，用乙醚振摇提取 3 次，每次 15 mL，弃去乙醚液后，用水饱和正丁醇提取 3 次，每次 15 mL，合并正丁醇液，用氨试液 10 mL 洗涤 2 次，弃去氨试液，正丁醇液蒸干，残渣加甲醇 1 mL 使溶解，作为供试品液，同法制得缺赤芍药材的阴性对照品。另取芍药苷对照品，加甲醇制成每 1 mL 含 2 mg 的溶液，作为对照品溶液。照薄层色谱法（中国药典 2005 版一部附录 VIB）试验，吸取对照品溶液 5 μL，供试品溶液 10 μL，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以氯仿-醋酸乙酯-甲醇-水（15∶40∶22∶10）在 10℃以下放置 12 小时的下层液为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 5% 香草醛硫酸溶液，用热风吹至斑点清晰。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，且阴性对照无干扰。

大黄：取本品 5 g，研细，加甲醇 30 mL，超声处理 20 分钟，滤过，滤液蒸干，残渣加水 10 mL 使溶解，再加盐酸 1 mL，加热回流 30 分钟，立即冷却，用乙醚提取 2 次，每次 20 mL，合并乙醚液，蒸干，残渣加氯仿 2 mL 使溶解，作为供试品液，同法制得缺大黄药材的对照品溶液。另取大黄对照药材 0.5 g，照

江西中医药 Jiangxi Journal of Traditional Chinese Medicine
http://www.ajutcm.com

供试品溶液的制备方法制得对照药材溶液。照薄层色谱法(中国药典2005版一部附录VIB)试验,吸取对照药材溶液5 μL,供试品溶液15 μL,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶G薄层板上,以石油醚(30~60℃)-甲酸乙酯-甲酸(15∶5∶1)的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,置氨蒸气中熏至斑点显色清晰。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,且阴性对照无干扰。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件与系统适应性试验 色谱柱;Symmetry C-18柱(150 mm×4.6 mm)十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;流动相:乙腈-水(15∶85);波长:270 nm;流速;1.0 mL/min;柱温为室温。理论板数按龙胆苦苷峰计算不低于3 000。对照品溶液、供试品溶液在相同时间(约11分钟)有一色谱峰,龙胆苦苷获得了较好的分离,阴性对照无干扰。

2.2.2 溶液制备 精密称取龙胆苦苷对照品10 mg,置25 mL量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀。精密吸取2 mL置于25 mL量筒中,加30%甲醇至刻度,摇匀,即得对照品溶液

取本品装量差异项下的内容物,研细,精密称取5 g,精密加入甲醇25 mL,称定重量,超声处理(功率300 W,频率25 kHz)40分钟,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,滤过,精密吸取续滤液2 mL置25 mL量瓶中,用30%甲醇稀释至刻度,摇匀,即得供试液溶液。

2.2.3 方法学考察 (1)线性关系的考察:精密称取龙胆苦苷对照品11.08 mg,置50 mL容量瓶中,加甲醇使溶解,并稀释至刻度,摇匀(即得浓度为221.6 μg/mL),再分别精密量取适量,用30%甲醇稀释成不同浓度的对照品溶液,龙胆苦苷为4.43、8.86、17.728、35.456、44.3、88.6 μg/mL,分别精密吸取上述不同浓度的对照品溶液各20 μL,注入液相色谱测定峰面积仪,测定峰面积,以峰面积积分值为纵坐标,,龙胆苦苷进样量为横坐标绘制标准曲线。得回归方程为 $y = 1E + 06x - 7\ 605.6$, $r^2 = 0.999\ 8$,结果表明龙胆苦苷进样量在0.088 6~1.772 μg范围内与峰面积线性关系良好。

(2)精密度试验:精密量取龙胆苦苷对照品溶液(浓度17.728 μg/ mL)20 μL,重复进样7次,测定峰面积,RSD为1.2%,结果表明仪器精密度良好。

(3)稳定性试验:取同一批供试品溶液20 μL,每隔2小时进样一次,结果8小时内龙胆苦苷峰面积值的*RSD*为0.4%,表明供试品溶液在8小时内稳定。

(4)重现性试验:分别取同一批样品5份,按供试品溶液制备方法制成供试品溶液,依法测定龙胆苦苷的峰面积,*RSD*为1.9%。

(5)加样回收试验:取已知含量的样品适量,研细,精密称取约2.5 g,置具塞锥形瓶中,分别精密添加龙胆苦苷对照品溶液(浓度115 μg/ mL)25 mL,按供试品溶液制备方法制备供试液,依法测定,平均回收率101.34%,*RSD*为0.86%($n=5$)。

2.2.4 样品含量测定 取不同批号样品,依法制备供试液,分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各20 μL,注入液相色谱仪,结果批号为20050721,20050722,20050723,20050911,20050912,20050913,20060118,20060119,20060120,20060121的样品中龙胆苦苷含量分别为10.4,11.0,11.7,10.8,10.8,10.6,5.8,6.3,5.9,6.0 mg/袋。

3 讨论

龙胆苦苷为环烯醚萜的苷类成分,易溶于甲醇,故采用甲醇提取制备供试液。但甲醇作溶剂在上述色谱条件下出现严重的前沿峰,改用30%甲醇为溶剂则峰形得到较好改善。又因本品为颗粒剂,含糖量高,若直接用30%甲醇提取,则粘稠度高、不易过滤。最终选择:先用甲醇提取,再用30%甲醇稀释的方法,获得较好的效果。

制备供试液时,考察了不同提取时间对样品含量测定结果的影响,结果超声提取时间40分钟,龙胆苦苷即可提取完全

参照《中国药典》一部[1]药材中含量测定的流动相,比较了甲醇-水(27∶78)和乙腈-水(15∶85)的分离效果,结果采用乙腈-水(15∶85)流动相所得对照品溶液及供试品溶液的龙胆苦苷均完全基线分离,峰形好、柱效高、柱压低,故选用该流动相.

根据10批样品中龙胆苦苷的含量测定结果,参考中国药典2005年版一部龙胆含量测定项下龙胆苦苷含量不得少于1.0%,每袋成品中含龙胆的量为0.833 g,龙胆苦苷从药材中60%~70%转化为成品,则每袋含龙胆苦苷为4.99~5.83 mg,故以5.5 mg作为成品的含量测定限度,基本合理,拟定本品每袋含龙胆苦苷($C_{16}H_{20}O_9$)不得少于5.5 mg。

参考文献

[1]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,2005:附录XⅧA 114,64,198,109,17.

(收稿日期:2008-12-11 责任编辑:曹征)

江西中医药 http://www.ajutcm.com