

桂枝茯苓片质量标准的研究

★ 张加余 代龙 曹广尚 郭俊国 (山东中医药大学 济南 250014)

关键词:桂枝茯苓片;质量标准;TLC;HPLC

中图分类号:R 282.7 文献标识码:A

桂枝茯苓片是由桂枝、茯苓、牡丹皮等药物组成,具有活血化瘀、缓消癥块的功效,用于妇女血瘀所致下腹宿有癥块,月经量多或漏下不止,血色紫暗,多血块,小腹隐痛或腹痛拒按,舌暗有瘀斑,脉涩或细^[1]。为控制产品内在质量,建立了本品定性鉴别和含量测定的方法。

1 仪器与试药

LC-2010A 高效液相色谱仪(日本岛津,SPD-10AVP 检测器,Class-VP 工作站);KQ-250E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。丹皮酚对照品(批号 110708-200605)、桂皮醛对照品(批号 110710-200513)、芍药苷对照品(批号 110736-200526)和茯苓对照药材(批号 121117-200504)均购自中国药品生物制品检定所;甲醇为色谱纯,水为重蒸水,其它所用试剂均为分析纯;桂枝茯苓片(江苏康缘药业股份有限公司),阴性样品(自制)。

2 薄层鉴别

2.1 茯苓的鉴别 取本品 6 片,除去包衣,研细,加甲醇 30 ml,超声提取 30 min,滤过,滤液水浴蒸干,残渣加水 15 ml 使溶解,用乙醚提取 3 次,每次 20

ml,合并乙醚液,水液备用,挥干乙醚液,残渣加甲醇 2 ml 使溶解,作为供试品溶液;取缺茯苓药材的阴性样品,同法制成阴性对照溶液;另取茯苓对照药材 2 g,同法制成对照药材溶液。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)-丙酮-乙酸乙酯(84:15:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同的蓝色荧光主斑点($R_f=0.49$),阴性样品无干扰。

2.2 桂枝的鉴别 取缺桂枝药材的阴性样品,依法制成阴性对照溶液;另取桂皮醛对照品适量,加甲醇制成每 1 ml 含 2 μ l 的溶液,作为对照品溶液。吸取对照品溶液、阴性对照溶液和“2.1”项下供试品溶液各 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(17:3)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以二硝基苯肼乙醇试液。结果供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同的橙色主斑点($R_f=0.38$),阴性样品无干扰。

2.3 白芍的鉴别 取“2.1”项下剩余水液用水饱和

表 1 芪仙胶囊中黄芪甲苷含量测定结果($n=3$)

样品批号	黄芪甲苷含量/ $\text{mg}\cdot\text{粒}^{-1}$
20061101	0.185
20061102	0.178
20061103	0.183

3 讨论

3.1 检测方法的选择 黄芪甲苷为皂苷类成分,皂苷类成分紫外吸收波数较低,用紫外检测器检测时,干扰很大,无法正常检测。蒸发光散射检测器(ELSD)为质量型通用检测器,与检测物质性质无关^[1,2]。经实验得出,ELSD 用于黄芪甲苷的含量测定,重现性、稳定性、灵敏度均能符合含量测定的要求。

3.2 检测参数的优化 决定 ELSD 的检测效果与载气速度

和漂移管温度两个基本参数有关。在 ELSD 检测中,当载气流速太低时,雾化后的样品易聚集形成微液滴,影响检测;当载气流速太快时,不利于样品的分离。漂移管温度太低时,溶剂挥发不够完全造成基线不平;温度太高时,可能造成样品的挥发,影响检测结果。本实验的最终优化条件为:漂移管温度为 101.1 $^{\circ}$ C,载气为空气,气体流速为 2.7 L/min,压力 4 kPa。

参考文献

- [1]刘鹏,周军. 高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定花芪通脉颗粒中黄芪甲苷的含量[J]. 医药导报, 2006, 11(25): 1197-1198.
- [2]王光忠,胡克. 高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定静心胶囊中黄芪甲苷的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2006, 9(26): 1065-1067.

(收稿日期:2007-01-29)

的正丁醇提取 2 次,每次 20 ml,合并正丁醇液,水浴蒸干,残渣加甲醇 2 ml 使溶解,作为供试品溶液。取缺白芍药材的阴性样品,依法制成阴性对照溶液;另取芍药苷对照品,加甲醇制成每 1 ml 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。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,以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(40:5:10:0.2)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 香草醛硫酸溶液,105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。结果供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同的紫色斑点($R_f=0.56$),阴性样品无干扰。

3 含量测定

3.1 溶液制备

3.1.1 对照品溶液 取丹皮酚对照品适量,精密称定,加甲醇溶解制成每 1 ml 约含 30 μ g 的溶液,即得。

3.1.2 供试品溶液 取本品 30 片,除去包衣,研细,取 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加甲醇 50 ml,称定重量,超声处理(250 W, 40 kHz) 20 min,放冷,再称定重量,用甲醇补足损失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

3.1.3 阴性对照液 取缺牡丹皮、白芍药材的阴性样品,同“3.1.2”项下方法操作,即得。

3.2 色谱条件与系统适应性试验

色谱柱:Kromasil C_{18} 色谱柱(150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m);流动相:甲醇-水(50:50);检测波长:274 nm;柱温:25 $^{\circ}$ C;流速:1 ml/min;进样量:10 μ l;理论板数按丹皮酚峰计算应不低于 2 000。

3.3 线性关系的考察

精密称定丹皮酚对照品 13.26 mg,至 100 ml 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀。精密吸取 25 ml,至 100 ml 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀。按上述色谱条件,分别精密吸取 2、4、6、8、10 ml 至 10 ml 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。分别精密吸取各浓度溶液 10 μ l,注入液相色谱仪,测定峰面积。以进样量(μ g)为横坐标,以峰面积积分值为纵坐标,绘制标准曲线,计算回归方程: $Y=5.03 \times 106X+2\ 720.1$, $r=0.999\ 95$ 。

结果表明在 0.066 3~0.331 5 μ g 范围内,丹皮酚对照品进样量与峰面积值呈良好的线性关系。

3.4 精密度试验

取丹皮酚对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 ml 含 26.52 μ g 的溶液,作为对照品溶液,按上述

色谱条件重复进样 5 次,测定峰面积积分值, $RSD=0.09\%$ 。表明仪器精密度良好。

3.5 稳定性试验

取样品(20060301) 30 片,除去包衣,研细,取 0.5 g,精密称定,按“3.1.2”项下方法处理得供试品溶液,依上述色谱条件分别于 0、2、4、8、12 h 测定峰面积,计算 RSD 为 0.13%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

3.6 重复性试验

取样品(20060301) 30 片,除去包衣,研细,精密称取 5 份,每份约 0.5 g,分别按“3.1.2”项下方法处理得供试品溶液,依上述色谱条件测定含量,计算 RSD 为 0.49%。

3.7 回收率试验

精密称取“3.6”项下的细粉 5 份,每份约 0.25g,精密称定,分别精密加入丹皮酚对照品甲醇液(1.70 mg/ml)各 1 ml,挥干溶剂,再精密加甲醇 25 ml,按“3.1.2”项下方法处理得供试品溶液,再依照上述色谱条件测定含量,计算平均回收率为 99.32%, RSD 为 0.52%。

3.8 样品含量测定

按“3.1.2”项下方法以及上述色谱条件对 3 批样品的含量进行测定,以外标法计算含量,取其平均值。结果见表 1。

表 1 丹皮酚含量测定结果($n=4$)

批号	丹皮酚含量/ $\text{mg} \cdot \text{片}^{-1}$	$RSD(\%)$
20060301	2.235	0.92
20060302	2.240	0.96
20060303	2.243	1.04

4 讨论

桂枝为方中君药,曾对其中的肉桂酸进行了含量测定,但是其含量不到万分之一,不具有质控意义,故未对其进行含量测定。

处方中的白芍和牡丹皮药材均含有丹皮酚,不同批次的牡丹皮药材中的丹皮酚含量差异较大^[2]。试验中曾经测定了五批不同来源的白芍药材中的丹皮酚的含量,结果均在 0.1% 以下。为了更好地控制本品的质量,因此采用了牡丹皮、白芍双空白的方法。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准[S]. 北京:化学工业出版社,1998.
- [2] 阴健,郭力弓. 中药现代研究与临床应用(I II III)[M]. 北京:学苑出版社,1993.

(收稿日期:2007-06-07)