

· 中药工业 ·

藏药十味乳香胶囊质量标准研究

招嘉文¹, 祝清灿^{2*}, 魏俊校¹, 黄炳森¹, 刘凯², 陈泳惠¹, 杜蔼媚¹

[1. 国药集团德众(佛山)药业有限公司, 广东 佛山 528000;

2. 国药集团同济堂(贵州)制药有限公司, 贵州 贵阳 550200]

[摘要] 目的: 提高十味乳香胶囊质量标准。方法: 采用薄层色谱法对方中诃子和毛诃子进行定性鉴别; 采用高效液相色谱法测定大黄酚的含量, 使用 FNG Redclassical C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 以甲醇-0.1% 磷酸溶液(80:20)为流动相; 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长为 254 nm。结果: 薄层色谱斑点清晰, 阴性无干扰。大黄酚在 0.100 8~1.008 μg 有良好的线性关系($r=0.999\ 7$), 平均加样回收率为 99.02% ($n=6$), RSD 为 1.91%。结论: 建立的方法准确、可靠、重复性好, 可用于该制剂的质量控制。

[关键词] 十味乳香胶囊; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 诃子; 毛诃子; 大黄酚

Studies on Quality Standard of SHIWEIRUXIANG Capsule

ZHAO Jiawen¹, ZHU Qingcan², WEI Junxiao¹, HUANG Bingsen¹, LIU Kai², CHEN Yonghui¹, DU Aimei¹

[1. Sinopharm Group Dezhong(Foshan) Pharmaceutical Co., Ltd., Foshan Guangdong 528000, China;

2. Sinopharm Group Tongjitang(Guizhou) Pharmaceutical Co., Ltd., Guiyang Guizhou 550200, China]

[Abstract] **Objective:** To improve the quality standard of SHIWEIRUXIANG Capsule. **Methods:** The TLC method was used to qualitatively identify Fructus of *Terminalia chebula* and *T. billericiae*. HPLC was used to determine chrysophanol. **Results:** Thin layer chromatograms were clear with good specificity, and no interfere was observed in negative TLC chromatogram. The calibration curve of chrysophanol was linear in the range of 0.100 8-1.008 μg ($r=0.999\ 7$). The average recovery was 99.02%, RSD was 1.91%. **Conclusion:** The established methods were accurate, reliable, reproducible and can be used for the quality control of SHIWEIRUXIANG Capsule.

[Keywords] SHIWEIRUXIANG Capsule; TLC; HPLC; *Terminalia chebula*; *Terminalia billericiae* Fructus; chrysophanol.

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.2017.1.023

十味乳香胶囊为藏药制剂, 由宽筋藤、诃子、毛诃子、决明子、黄葵子、乳香等组成。质量标准收载于《国家中成药标准汇编》脑系经络肢体分册。具有祛风燥湿的功能。用于湿疹、类风湿性关节炎、痛风等风湿痹症、黄水病、皮肤病。该制剂现行质量标准对宽筋藤、木香进行薄层色谱法鉴别, 采用薄层扫描法进行决明子中大黄酚的含量测定。为了控制产品质量, 确保临床疗效, 本实验采用薄层色谱法对诃子^[1-6]、毛诃子进行定性鉴别^[1,5-6], 改用高效液相色谱法对大黄酚进行含量测定^[1,8], 为提高其质量标准提供参考。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Waters 2695 高效液相色谱仪(在线脱气机、四

元泵、2998PDA 二极管阵列检测器、Empower2 化学工作站); BS224S 电子分析天平(德国赛多利斯公司); YOKO-ZS 薄层色谱成像仪(武汉药科新技术开发有限公司); ZF-2C 型暗箱式自动紫外分析仪(上海安亭电子仪器厂); 必能信超声波清洗仪[型号 Branson 5510, 必能信超声(上海)有限公司]; 功率 250 W, 频率 40 kHz)。

1.2 试药

HPLC 用甲醇为色谱纯(赛默飞世尔科技有限公司, 批号: 144639); 水为超纯水; 其余试剂为分析纯(天津市富宇精细化工有限公司)。

诃子对照药材(121015-201004)、毛诃子对照药材(121206-0101)、大黄酚对照品(110796-201118)均购于中国食品药品检定研究院。硅胶 G 预制薄层

* [通信作者] 祝清灿, 高级工程师, 研究方向: 中药成药质量标准; E-mail: 657662046@qq.com

板(德国默克公司,批号:HX377558);硅胶G预制薄层板(青岛海洋化工厂分厂,批号:20120622);硅胶G预制薄层板(浙江台州市路桥四甲生化塑料厂);硅胶G(200目,青岛海洋化工有限公司分,批号:0130616)。C₁₈固相萃取小柱(Waters Sep-Pak Vac 500 mg/3cc,沃特世公司,批号:036032328A;Varian Bond Elute-C₁₈500 mg/3 mL,瓦里安公司,批号:0703510;Welch C₁₈E 500 mg/6 mL,月旭科技公司,批号:00501)。

十味乳香胶囊样品(青海普兰特药业有限公司,批号分别为140201,140504,140613,140701,140711,140811,140907,141003,141116,150130)。

2 方法与结果

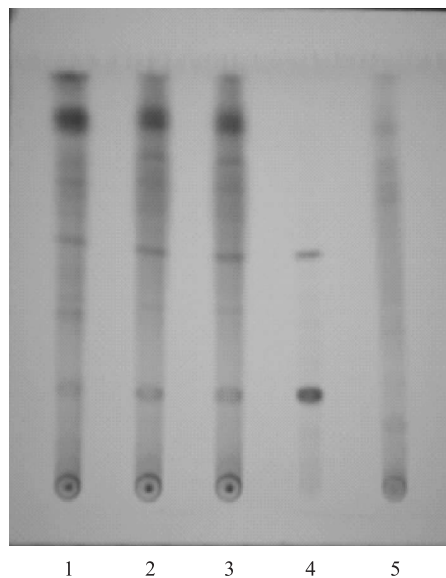
2.1 诃子薄层色谱鉴别

2.1.1 供试品溶液的制备 取十味乳香胶囊内容物1 g,加无水乙醇30 mL,加热回流30 min,滤过,滤液蒸干,残渣用甲醇5 mL使溶解,通过中性氧化铝柱(100~200目,5 g,内径为2 cm),用稀乙醇50 mL洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加水5 mL使溶解,滤过,滤液通过已处理好的C₁₈固相萃取小柱(规格500 mg,3 mL,先用甲醇10 mL冲洗,再用水10 mL冲洗),用30%甲醇10 mL洗脱,弃去30%甲醇洗脱液,再用甲醇10 mL洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加甲醇0.5 mL使溶解,作为供试品溶液^[1]。

2.1.2 对照药材溶液的制备 取诃子对照药材0.5 g,加无水乙醇30 mL,按2.1.1方法制备,残渣加甲醇1 mL使溶解,作为对照药材溶液。

2.1.3 阴性对照溶液的制备 按照处方配比,取除诃子外的其他药味,按十味乳香胶囊工艺制成样品,按2.1.1的方法制成缺诃子阴性对照溶液。

2.1.4 薄层鉴别方法及结果 吸取供试品溶液与缺诃子阴性对照溶液各10 μL、诃子对照药材溶液5 μL,分别点于硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-水(15:5:2)10℃以下放置过夜的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,在105℃加热至斑点显色清晰,日光下检视。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,阴性对照溶液在相应的位置上无斑点。见图1。



注:1~3. 供试品(批号:140504,140613,140701);4. 诃子对照药材;5. 缺诃子阴性。

图1 十味乳香胶囊诃子薄层色谱图

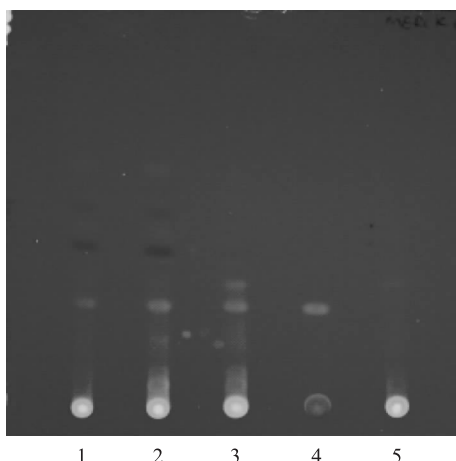
2.2 毛诃子薄层色谱鉴别

2.2.1 供试品溶液的制备 取十味乳香胶囊内容物1 g,加无水乙醇30 mL,加热回流30 min,滤过,滤液蒸干,残渣用甲醇5 mL使溶解,通过中性氧化铝柱(100~200目,5 g,内径为2 cm),用稀乙醇50 mL洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加水6 mL使溶解,滤过,滤液通过已处理好的C₁₈固相萃取小柱(规格500 mg,3 mL,先用甲醇10 mL冲洗,再用10 mL水冲洗),用30%甲醇10 mL洗脱,弃去30%甲醇洗脱液,再用10 mL甲醇洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加0.5 mL甲醇使溶解,作为供试品溶液^[1]。

2.2.2 对照药材溶液的制备 取毛诃子对照药材0.5 g,加无水乙醇30 mL,按2.1.1方法制备,残渣加1 mL甲醇使溶解,作为对照药材溶液。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 按照处方配比,取除毛诃子外的其他药味,按十味乳香胶囊工艺制成样品,按2.2.1方法制成缺毛诃子阴性对照溶液。

2.2.4 薄层鉴别方法及结果 吸取供试品溶液与缺毛诃子阴性对照溶液各10 μL、毛诃子对照药材溶液5 μL,分别点于硅胶G薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(8:2:0.5)为展开剂,展开,取出,晾干,置于紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,阴性对照在相应的位置上无斑点。见图2。



注: 1~3. 供试品(批号: 140504, 140613, 140701);
4. 毛诃子对照药材; 5 缺毛诃子阴性。

图2 十味乳香胶囊毛诃子薄层色谱图

2.3 大黄酚的含量测定

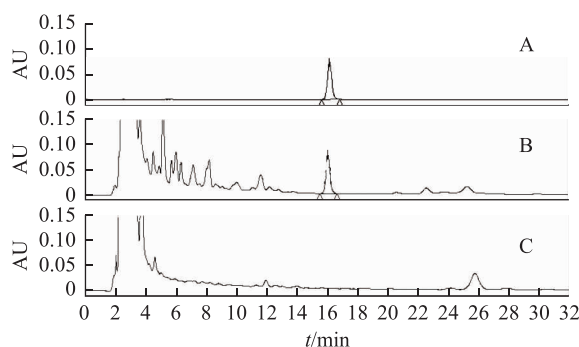
2.3.1 供试品溶液的制备 取十味乳香胶囊内容物, 研细, 取约2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加甲醇50 mL, 80℃水浴回流30 min, 滤过, 滤渣用10 mL甲醇洗涤, 合并滤液, 蒸干, 残渣加水10 mL使溶解, 再加盐酸1 mL, 置水浴中加热30 min, 立即冷却, 用乙醚振摇提取4次, 每次20 mL, 合并乙醚液, 蒸干, 残渣加甲醇使溶解, 并转移至10 mL量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称取大黄酚对照品适量, 加甲醇制成质量浓度为 $50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液, 作为对照品溶液。

2.3.3 阴性对照溶液的制备 按照处方配比, 取除决明子外的其他药味, 按十味乳香胶囊工艺制成样品, 按2.3.1方法制成缺决明子阴性对照溶液。

2.3.4 色谱条件 采用FNG Redclassical C_{18} (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱、Kromasil 5-100 C_{18} (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱和Welch Ultimate XDB- C_{18} (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 以甲醇-0.1%磷酸溶液(80:20)为流动相, 流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 检测波长为254 nm; 理论板数按大黄酚峰计不低于3000, 分离度大于1.5, 符合规定。

2.3.5 专属性试验 吸取大黄酚对照品溶液、十味乳香胶囊供试品溶液、缺决明子阴性对照溶液各5 μL , 按2.3.4色谱条件进样测定。结果表明, 大黄酚能与其他成分的色谱峰分离, 缺决明子阴性对照无干扰, 结果见图3。



注: A. 大黄酚对照品; B. 十味乳香胶囊样品; C. 缺决明子阴性对照样品。

图3 大黄酚检测 HPLC 图

采用二极管阵列检测器对十味乳香胶囊供试品溶液中的大黄酚色谱峰进行峰光谱扫描和纯度检测, 结果峰纯度角度 < 峰纯度阈值, 供试品中大黄酚光谱图与谱库中大黄酚标准光谱图匹配理想, 说明大黄酚色谱峰为纯峰, 纯度符合要求。见图4~5。

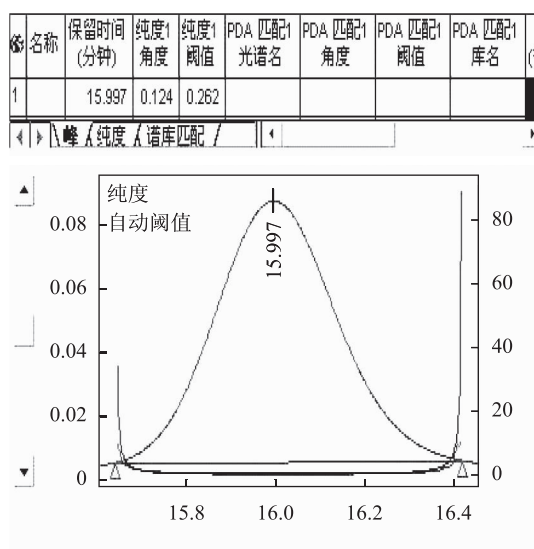


图4 供试品溶液大黄酚纯度检测图

2.3.6 线性关系的考察 取大黄酚对照品适量, 精密称定, 置50 mL容量瓶中, 加甲醇使溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 制成每1 mL中含大黄酚201.6 μg 的对照品溶液。精密吸取该对照品溶液5 mL ($n=4$), 分别置于10、20、25、50 mL容量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 制成系列浓度对照品溶液I~IV(质量浓度分别为100.8、50.40、40.32、20.16 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)。分别精密吸取对照品溶液、系列浓度对照品溶液I~IV各5 μL , 注入液相色谱仪, 按2.3.4色谱条件测定各自峰面积。以进样量(μg)

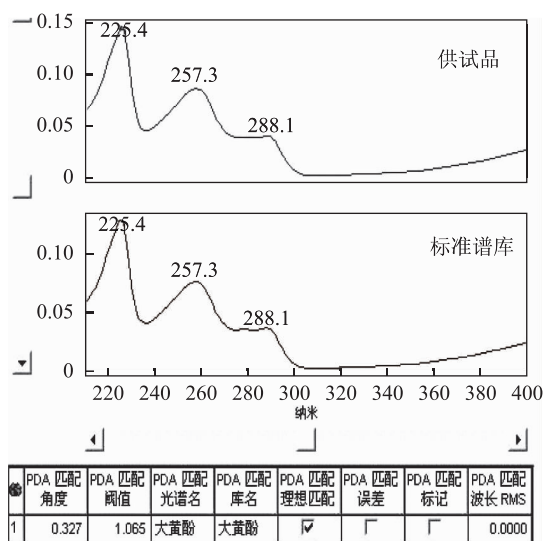


图5 供试品溶液大黄酚光谱库匹配图

为横坐标(X), 峰面积为纵坐标(Y), 求得大黄酚的线性回归方程: $Y = 4\,554\,912X + 16\,672$, $r = 0.999\,7$ 。结果表明, 大黄酚在 $0.100\,8 \sim 1.00\,8\,\mu\text{g}$ 线性关系良好。

2.3.7 精密度试验 精密吸取大黄酚对照品溶液 ($50.40\,\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) $5\,\mu\text{L}$, 重复进样5次, 按2.3.4色谱条件测定, 平均峰面积为 $1\,183\,254$, RSD为 1.0% , 符合测定要求。

2.3.8 稳定性考察 取十味乳香胶囊(批号140201)按照2.3.1方法制备供试品溶液, 分别于0、2、4、8、11、24 h进样 $5\,\mu\text{L}$, 按2.3.4色谱条件测定, 大黄酚峰面积的RSD为 0.5% , 结果表明, 供试品溶液在24 h内稳定。

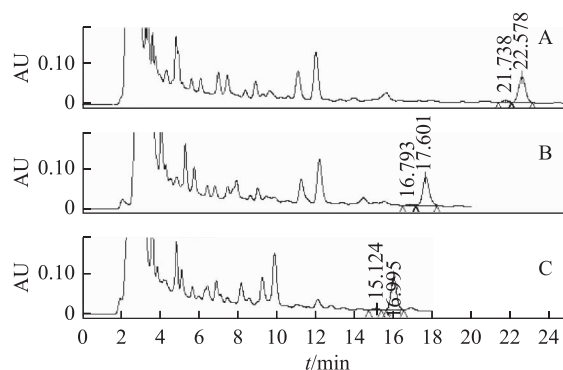
2.3.9 重复性试验 取十味乳香胶囊(批号140201), 研细, 混匀, 取6份, 每份约 $2\,\text{g}$, 精密称定, 按2.3.1方法制备供试品溶液。按2.3.4色谱条件测定每一份的含量, 结果样品中大黄酚平均含量为 $0.298\,\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD为 1.4% , 表明本方法重复性良好。

2.3.10 加样回收试验 取十味乳香胶囊(批号: 140201, 含大黄酚 $0.298\,\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$), 研细, 混匀, 取6份, 每份约 $1\,\text{g}$, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 分别精密加入对照品溶液(每 $1\,\text{mL}$ 中含大黄酚 $62.09\,\mu\text{g}$) $5\,\text{mL}$, 按2.3.1方法制备供试品溶液, 按2.3.4色谱条件测定, 计算大黄酚的回收率。结果平均回收率为 99.02% , RSD为 1.91% , 表明方法的准确性较好。见表1。

表1 大黄酚加样回收测定结果($n=6$)

编号	供试品取 样量/g	供试品 含量/mg	对照品加 入量/mg	测得含 量/mg	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	1.039 8	0.309 9	0.310 4	0.614 2	98.03	99.02	1.91
2	1.016 2	0.302 8	0.310 4	0.615 0	100.58		
3	1.017 0	0.303 1	0.310 4	0.615 4	100.61		
4	1.031 7	0.307 4	0.310 4	0.617 1	99.77		
5	1.018 3	0.303 5	0.310 4	0.612 2	99.45		
6	1.050 5	0.313 0	0.310 4	0.610 0	95.68		

2.3.11 耐用性考察 取十味乳香胶囊(批号140504), 采用不同品牌的色谱柱 A: Kromasil 5-100 C_{18} ($250\,\text{mm} \times 4.6\,\text{mm}$, $5\,\mu\text{m}$)、B: Welch Ultimate XDB- C_{18} ($250\,\text{mm} \times 4.6\,\text{mm}$, $5\,\mu\text{m}$)、C: FNG Redclassical C_{18} ($250\,\text{mm} \times 4.6\,\text{mm}$, $5\,\mu\text{m}$), 按2.3.4色谱条件测定, 分离度分别为1.5、1.5、1.8, 理论板数分别为19 127、13 960、15 288, RSD为 1.4% , 结果表明, 本实验色谱条件耐用性良好。见图6。



注: A: Kromasil 5-100 C_{18} ; B: Welch Ultimate XDB- C_{18} ;

C: FNG Redclassical C_{18} 。

图6 不同色谱柱的比较

2.3.12 样品的测定 取十味乳香胶囊10个批号, 按2.3.1制备供试品溶液, 按2.3.4色谱条件测定, 用外标法计算大黄酚的含量, 结果见表2。

表2 十批成品中大黄酚含量测定结果

批号	大黄酚含量($\mu\text{g}/\text{粒}$)	批号	大黄酚含量($\mu\text{g}/\text{粒}$)
140201	89	140811	90
140504	87	140907	96
140613	98	141003	89
140701	73	141116	67
140711	85	150130	75

3 讨论

中诃子、毛诃子为处方主要组成药味, 与功能

主治有密切关系,因此增加诃子、毛诃子的鉴别有利于提高产品质量控制。参照《中华人民共和国药典》2015年版一部诃子、毛诃子的薄层色谱鉴别方法,采用相同的供试品溶液提取方法分别进行诃子和毛诃子的鉴别,参照中华人民共和国药典的薄层色谱条件,发现诃子和毛诃子阴性有干扰,展开效果不理想。故对薄层色谱条件进行筛选优化,最终采用本文的薄层色谱条件。结果表明,薄层色谱斑点清晰,方法专属性好,阴性无干扰。

在诃子和毛诃子的鉴别研究中,曾采用不同品牌的薄层板和 SPE 固相萃取小柱进行比较,并分别考察了高温、高湿、低温、低湿等环境对薄层展开效果的影响,结果均能得到清晰的薄层色谱斑点,阴性无干扰,说明方法的耐用性较好。

取大黄酚对照品溶液,经紫外-可见分光光度计在 210~400 nm 进行扫描,大黄酚在 225.4、257.3、288.1 nm 处有吸收峰,大黄酚在 257.3 nm 波长处有最大吸收,参考《中华人民共和国药典》2015年版一部大黄药材项下规定^[1],确定 254 nm 为本实验的测定波长。

原标准采用薄层扫描法测定决明子中大黄酚的含量,受上样技术、薄层板质量、展开条件、温湿度等因素影响较大,平行实验的精密度较差,方法准确性不够理想。故采用 HPLC 法测定大黄酚的含量,提高含量测定的重现性和自动化程度。经两种

方法测得的数据比较,无显著差异。

处方决明子中大黄酚的含量测定参考相关文献,对色谱条件进行优化,比较了乙腈-0.1% 磷酸梯度洗脱、不同比例的甲醇-0.1% 磷酸等度洗脱、不同比例的乙腈-甲醇-0.1% 磷酸洗脱系统,最后采用甲醇-0.1% 磷酸(80:20)洗脱系统,具有专属性高、重现性好,分离能力强、灵敏度高,与中华人民共和国药典系统相比有操作简便等优点。

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:中国医药科技出版社,2015.
- [2] 杨俊荣,孙芳云. 诃子化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发,2008,20(3):450-451.
- [3] 刘玉梅,宋宝安,杨松,等. 诃子化学成分与生物活性的研究进展[J]. 贵州大学学报(自然科学版),2007,2(24):208.
- [4] 张海龙,裴月湖,华会明,等. 诃子化学成分及药理活性的研究进展[J]. 沈阳药科大学学报,2001,18(6):452.
- [5] 杨永康,格桑索朗,吴家坤,等. 诃子,毛诃子和余甘子的植物分类研究和药学特性综述[J]. 中国医学生物技术应用杂志,2004(1):14.
- [6] 国家药品标准:青鹏软膏. 药典委网站公示稿.
- [7] 杨希,聂晶,谭静玲,等. 一清系列制剂中大黄素和大黄酚的含量比较[J]. 中国药师,2014,17(8):1340-1352.
- [8] 毋小东,苏晶,汪杨丽. HPLC 测定八正片中大黄素及大黄酚含量[J]. 食品与药品,2014,16(3):203.

(收稿日期 2016-02-25)

(上接第 110 页)

- [2] 侯元凯,黄琳,周忠惠. 文冠果果实性状相关性研究[J]. 林业科学研究,2011,24(3):395-398.
- [3] 王颖,潘英,邢亚超,等. 文冠果种皮化学成分的分离与鉴定[J]. 中国药物化学杂志,2013,23(5):397-399.
- [4] 徐真真,黄国清,肖军霞,等. 干热条件下大豆分离蛋白-木糖美拉德反应研究[J]. 粮油食品科技,2015,23(2):26-30.
- [5] 史先振,朱圣陶,贺峰,等. 木糖改善胃肠道保健功能的实验研究[J]. 食品与药品,2008,10(9):40-42.
- [6] 马赛,李凭力,朱涛,等. 氯化铁催化木糖降解制备糠醛反应动力学[J]. 化工进展,2015,34(1):108-112.
- [7] 石琢,李清明,熊兴耀,等. 丝状真菌发酵木糖产乙醇的研究[J]. 中国酿造,2014,33(11):47-50.
- [8] 刘敏,汤婷婷,赵国明,等. Pd/C 催化氧化木糖制备木糖

酸[J]. 化学反应工程与工艺,2014,30(4):352-356.

- [9] 李雪雁,王丹,胡朝霞,等. 玉米芯酸法提取木糖的工艺改进[J]. 食品工业科技,2009,30(6):263-264,308.
- [10] 雷光鸿,崔素芬,李辰,等. 酸催化水解处理甘蔗叶提取木糖的研究[J]. 食品科技,2015,40(5):220-223.
- [11] 郑生宏,李大祥,方世辉,等. 茶籽壳酸水解制备木糖工艺研究[J]. 茶叶科学,2011,31(3):195-200.
- [12] 刘仁成,黄广民,姚伯元,等. 椰壳常压酸水解制备木糖[J]. 食品科学,2007,27(12):263-267.
- [13] 刘长虹,吴树新,朱艳坤,等. 玉米秸秆制备木糖工艺的研究[J]. 中国资源综合利用,2009,27(1):9-12.
- [14] 薛业敏,于瑾瑾,戴军,等. 极耐热性阿拉伯糖苷酶在木糖制备中的应用[J]. 食品与发酵工业,2007,33(9):14-19.
- [15] 李士雨,李响,齐向娟,等. 乙醇溶析结晶法由棉籽壳制备木糖[J]. 化工学报,2010,61(6):1482-1485.

(收稿日期 2016-03-02)