

风痛安胶囊质量标准的研究

颜晓航 (安徽省药品检验所, 合肥 230051)

摘要:目的 建立风痛安胶囊的质量控制方法。方法 采用 TLC 法对方材中的木瓜、连翘进行定性鉴别; 用 HPLC 法测定盐酸小檗碱的含量。结果 在 TLC 色谱中可检出木瓜、连翘; 盐酸小檗碱进样量在 0.0312 ~ 0.6236 μg 范围内线性关系良好 ($r = 0.9999$); 平均回收率为 98.4%, RSD 为 1.8%。结论 方法简便, 准确, 重复性好, 可用于控制风痛安胶囊的质量。

关键词: 风痛安胶囊; 木瓜; 连翘; 盐酸小檗碱; 质量标准

中图分类号: R917.101; R283 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2007)04-0320-02

Study on Quality Standard for Fengtong'an Capsules

YAN Xiao-hang (Anhui Provincial Institute for Drug Control, Hefei 230051, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the method for quality control of Fengtong'an capsules. **METHODS** Fructus Chaenomeles and Fructus Forsythiae were identified by TLC. The content of berberine hydrochloride was determined by HPLC. **RESULTS** Fructus Chaenomeles and Fructus Forsythiae could be identified by TLC. Berberine hydrochloride showed a good linear relationship at a range of 0.0312 ~ 0.6236 μg ($r = 0.9999$). The average recovery was 98.4%, and RSD was 1.8%. **CONCLUSION** The method is simple, accurate with a good reproducibility. It can be used for the quality control of Fengtong'an capsules.

KEY WORDS: Fengtong'an capsules; Fructus Chaenomeles; Fructus Forsythiae; berberine hydrochloride; quality standard

风痛安胶囊由防己、通草、桂枝、黄柏、木瓜、忍冬藤、连翘等 12 味中药组成, 具有清热利湿、活血通络之功效。原标准在卫生部药品标准中药成方制剂第四册中收载, 仅有粉防己碱和盐酸小檗碱的薄层色谱鉴别, 无含量测定项。为了更有效地控制其内在质量, 笔者通过试验研究增加了木瓜和连翘的薄层色谱鉴别, 并用 HPLC 对黄柏中的有效成分小檗碱进行含量测定。薄层鉴别方法专属、简便, 含量测定方法快捷、准确、重复性好, 可用于控制该制剂的质量。

1 仪器与试剂

1100LC 高效液相色谱仪: 包括四元泵, 在线脱气机, 自动进样器, VWD 检测器, Agilent Chemstation 工作站 (美国 Agilent 公司); UV-2401 紫外可见分光光度计 (日本 Shimadzu 公司); 硅胶 G 薄层板 (烟台化学工业研究所); 木瓜对照药材, 连翘苷和盐酸小檗碱对照品 (中国药品生物制品检定所); 风痛安胶囊 (安徽济人药业有限公司); 乙腈为色谱纯; 水为重蒸馏水; 其余试剂均为分析纯。

2 薄层色谱鉴别

2.1 木瓜

取本品内容物 5 g, 研细, 加乙醚 30 mL, 加热回流 1 h, 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。另取木瓜对照药材 1 g, 加水 20 mL, 加热回流 1 h, 放冷, 滤过, 滤液置水浴上蒸至约 1 mL, 加适量硅藻土拌匀, 蒸干, 加乙醚 30 mL, 同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法^[1]试验, 吸取上述两种溶液各 5 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板

上, 以环己烷-丙酮-乙酸乙酯 (12:3:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同的一个紫红色主斑点, 阴性对照无干扰。

2.2 连翘

取本品内容物 4 g, 研细, 加甲醇 30 mL, 超声处理 (功率 360 W, 频率 45 kHz) 20 min, 滤过, 滤液置水浴上蒸干, 残渣加水 20 mL 微热使溶解, 用水饱和的正丁醇振摇提取 2 次, 每次 20 mL, 合并正丁醇提取液, 用正丁醇饱和的氨试液 30 mL 洗涤, 弃去氨洗液, 再用正丁醇饱和的水洗涤 2 次, 每次 20 mL, 弃去水洗液, 正丁醇液置水浴上蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取连翘苷对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法^[1]试验, 吸取供试品溶液 5 μL 与对照品溶液 2 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-甲醇-冰醋酸 (8.5:1:0.5) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以醋酐-硫酸 (20:1) 溶液, 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰。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, 阴性对照无干扰。

3 含量测定

3.1 色谱条件

色谱柱: Shim-Pack VP-ODS (4.6 mm $\times$ 150 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.1% 磷酸 (50:50) (每 100 mL 加十二烷基硫酸钠 0.1 g); 流速: 1 mL $\cdot$ min⁻¹; 检测波长: 265 nm; 理论板数以盐酸小檗碱峰计算应不低于 2 000。

3.2 对照品溶液的制备

精密称取盐酸小檗碱对照品,加流动相制成每 1 mL 含 0.1559 mg 的溶液,作为对照品储备液。精密吸取对照品储备液 10 mL,置 100 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。

3.3 供试品溶液的制备

取装量差异项下的本品内容物,混匀,研细,取约 0.25 g,精密称定,精密加流动相 25 mL,称定重量,超声处理(功率 360 W,频率 45 kHz)30 min,放冷,再称定重量,用流动相补足减失的重量,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液,即得。

3.4 线性关系的考察

精密吸取对照品储备液 1,2,4,8,12,20 μL,按上述色谱条件测定,以盐酸小檗碱进样量(μg)为横坐标,相应的峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程: $A = 4517.7C + 1.1560$, $r = 0.9999$ 。结果表明,盐酸小檗碱进样量在 0.0312 ~ 0.6236 μg 范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

3.5 空白试验

取不含黄柏的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按上述色谱条件,吸取供试品溶液、对照品溶液和阴性对照溶液分别注入液相色谱仪测定,阴性对照无干扰。

3.6 重复进样精密度试验

精密吸取同一供试品溶液重复进样 5 次,测定盐酸小檗碱峰面积,其 RSD 为 0.42%。

3.7 稳定性试验

精密吸取供试品溶液,分别于配制后的 0,1,2,3,6,9,12,18,24 h 进样测定,其峰面积 RSD 为 1.8%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

3.8 重复性试验

取同一批号(050201)的样品 6 份,按供试品溶液制备方法制备,并按上述色谱条件测定,测得盐酸小檗碱平均含量为 0.508 mg · 粒⁻¹,RSD 为 1.5%。

3.9 加样回收率试验

精密称取已知盐酸小檗碱含量的样品(批号为 050201)5 份,分别精密加入一定量的盐酸小檗碱对照品,按供试品溶液制备法制备,并按上述色谱条件测定。平均回收率为 98.4%,RSD 为 1.8%,结果见表 1。

3.10 样品含量测定

取 9 批风痛安胶囊按供试品溶液制备方法制备并按上述色谱条件测定峰面积,按外标法计算样品中盐酸小檗碱的含量,结果分别为 0.51,0.54,0.44,0.50,0.49,0.48,0.43,0.45,0.37 mg · 粒⁻¹。

4 讨论

4.1 原部颁标准中的粉防己碱和盐酸小檗碱薄层色谱鉴别中,展开剂为三氯甲烷-甲醇-浓氨水(10:2:0.1),其色谱图中

表 1 加样回收率试验结果

Tab 1 The results of recovery

样品含盐酸小檗碱量 /mg	加入盐酸小檗碱量 /mg	测得总量 /mg	回收率 /%	平均回收率/%	RSD /%
0.2083	0.2012	0.4027	96.6		
0.2105	0.2012	0.4094	98.9		
0.2110	0.2012	0.4071	97.5		
0.2057	0.1632	0.3645	97.3		
0.2088	0.1632	0.3690	98.2	98.4	1.8
0.2105	0.1632	0.3778	102.5		
0.2256	0.2448	0.4684	99.2		
0.2043	0.2448	0.4462	98.8		
0.2099	0.2448	0.4471	96.9		

粉防己碱和盐酸小檗碱对照品的 Rf 值均较高,已接近前沿,通过试验将展开剂的比例调整为三氯甲烷-甲醇-浓氨水(10:1:0.1),两个对照品的 Rf 值适中,且斑点更为圆整。

4.2 连翘薄层色谱鉴别中,样品曾采用正丁醇提取液蒸干后甲醇溶解直接点样,结果色谱图背景污染较重,且连翘苷斑点与其他斑点分离不佳。后对净化处理方法进行比较,将正丁醇液分别采用水洗涤、碱水洗涤后水洗涤、蒸干、甲醇溶解后过中性氧化铝色谱柱的方法,结果采用方法碱水洗涤后水洗涤,不仅除去了供试品溶液中与连翘苷分离不佳的斑点,且其他杂质斑点也大大减少,使待测成分清晰易辨。

4.3 含量测定检测波长的选择:对盐酸小檗碱对照品溶液于 200 ~ 400 nm 波长范围内进行扫描,在 349,265 和 229 nm 均有吸收峰,229 nm 离溶剂末端吸收较近,通过对对照品和供试品溶液在 349 nm 和 265 nm 分别测得的 HPLC 色谱图进行分析,265 nm 波长处更为灵敏,盐酸小檗碱峰面积积分值较大,且供试品溶液中盐酸小檗碱峰与杂质峰的分离情况在两个波长处无明显差别,故选择 265 nm 为检测波长。

4.4 含量测定中供试品溶液提取条件的选择:试验比较了甲醇、盐酸-甲醇(1:100)、50% 甲醇、流动相超声提取,结果采用盐酸-甲醇(1:100)和流动相为提取溶剂含量测定值最高且基本一致,而采用流动相作为提取溶剂更为简便,且盐酸小檗碱峰形更加尖锐对称。对超声处理 20 ~ 40 min 进行比较,结果表明样品中的盐酸小檗碱超声处理 30 min 可提取完全。

参考文献

[1] ChP(2005) Vol I (中国药典 2005 年版.一部)[S]. 2005:41, 214, Appendix 31.
[2] LU W Q, LONG X H. Identification of Herb Durgs by TLC of Chinese Traditional Patent Medicine(中成药中的药材薄层色谱鉴别) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1997: 294-296.

收稿日期:2006-12-12