

藿香祛暑软胶囊质量标准研究

杜建红,张虹(山西生物应用职业技术学院,太原 030031)

摘要:目的 建立藿香祛暑软胶囊的质量标准。方法 采用薄层色谱法对广藿香、丁香、白芷、陈皮进行定性鉴别;采用高效液相色谱法测定橙皮苷的含量。结果 薄层图谱斑点清晰,阴性对照无干扰;橙皮苷在 0.1542~1.542 μg 范围内线性关系良好, $r=0.9994$,回收率在 96%~105%之间。结论 该方法专属性强,灵敏度高,重复性好,运用薄层色谱法和高效液相色谱法对藿香祛暑软胶囊进行质量控制的结果是可信的。

关键词:藿香祛暑软胶囊;丁香酚;欧前胡素;橙皮苷;薄层色谱法;高效液相色谱法

中图分类号:R943.1 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2007)08-0711-04

Study on Quality-controlling Standard of Huoxiang (Herba Agastachis) Eliminating Summer-heat Soft Capsule

DU Jian-hong, ZHANG Hong

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the quality-controlling standard of Huoxiang (Herba Agastachis) Eliminating Summer-heat Soft Capsule. **METHODS** To perform qualitative identification on Guanghuoxiang (Pogostemon Cablin (Blanco) Benth.), Dingxiang (Flos Caryophylli), Baizhi (Radix Angelicae Dahuricae), Chenpi (Pericarpium Citri Reticulatae) by means of TLC method. To determine the quantity of Hesperidin by HPLC method. **RESULTS** The spots on TLC plate are clear, It is proved that the method used in test is feasible through negative contrast experiments. There was an excellent linear relationship in the range of 0.1542~10542 μg for Hesperidin with the correlation coefficient of 0.9994. The recovery rate was within 96%~105%. **CONCLUSION** The method mentioned above possesses high specificity, sensitivity and reproductivity. It is credible to carry on the quality-controlling of Huoxiang (Herba Agastachis) Eliminating Summer-heat Soft Capsule by means of TLC and HPLC.

KEY WORDS: Huoxiang (Herba Agastachis) Eliminating Summer-heat Soft Capsule; Eugenol Imperatorin Hesperidin; TLC; HPLC

藿香祛暑软胶囊是由广藿香、香薷、白芷、紫苏叶、苍术、丁香、陈皮、大腹皮、法半夏、茯苓、生姜、甘草十二味中药组成的,具有祛暑化湿、解表和中作用。用于内蕴湿滞、受暑感寒引起的恶寒发热、头痛无汗、四肢酸懒、恶心呕吐、腹痛

腹泻。为了更好地控制产品内在质量,本实验采用 TLC法对制剂中的广藿香、丁香、白芷、陈皮进行了定性鉴别,采用 HPLC法对制剂中橙皮苷进行了含量测定。

1 仪器和试剂

1.1 仪器

岛津—高效液相色谱仪。LC-10ATvp溶剂输送泵,SPD-10Avp紫外-可见检测器,C-R8A记录仪。

1.2 试剂

乙腈色谱纯,纯化水,其他试剂均为分析纯。

1.3 对照品

丁香酚由中国药品生物制品检定所提供,批号725-200209,欧前胡素由中国药品生物制品检定所提供,批号0826-200206,橙皮苷由中国药品生物制品检定所提供,批号为0721-200010(供含量测定用)。使用前置干燥器中干燥至恒重。

1.4 样品

藿香祛暑软胶囊由山西黄河中药有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

2.1.1 广藿香的薄层鉴别^[1] 取本品内容物3g,加石油醚(30~60℃)20 mL,摇匀,滤过,滤液于水浴上低温挥散至3 mL,作为供试品溶液。另取广藿香对照药材适量加醋酸乙酯制成每1 mL含2 mg的溶液,作为对照药材溶液。取缺广藿香的藿香祛暑软胶囊内容物适量加醋酸乙酯制成每1 mL含2 mg的溶液,作为阴性样品,照薄层色谱法(中国药典2000年版一部附录VI B)试验,吸取上述3种溶液各2 μL,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶G薄层板上,以正己烷-醋酸乙酯(17:3)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以5%香草醛硫酸溶液,在105℃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。缺广藿香的阴性样品无干扰。

2.1.2 丁香的薄层色谱鉴别^[2] 另取丁香酚对照品,加乙醚制成每1 mL含16 μg的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典2000年版一部附录VI B)试验,吸取广藿香鉴别项下的供试品溶液,缺丁香的阴性样品及上述对照品溶液各2 μL,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶G薄层板上,以石油醚(60~90℃)-醋酸乙酯(9:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以5%香草醛硫酸溶液,在105℃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。缺丁香的阴性样品无干扰。

2.1.3 白芷的薄层鉴别^[2] 取本品内容物3g,加乙醚20 mL冷浸2 h,时时振摇,滤过,滤液低温挥散至2 mL,作为供试品溶液。另取欧前胡素对照品加醋酸乙酯制成每1 mL含1 mg的溶液,作为对照品溶液。取缺白芷的内容物为阴性样品。照薄层色谱法(中国药典2000年版一部附录VI B)试验,吸取上述3种溶液各3 μL,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶G薄层板上,以石油醚(60~90℃)-醋酸乙酯(3:2)为展开剂,在25℃以下展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。缺白芷的阴性样品无干扰。

2.1.4 陈皮的薄层鉴别^[2] 取广藿香鉴别项下石油醚提取后的残渣挥尽石油醚,残渣加甲醇20 mL回流提取30

min,滤过,滤液挥散至2 mL,作为供试品溶液。另取橙皮苷对照品加甲醇制成饱和溶液,作为对照品溶液。取缺陈皮的内容物为阴性样品。照薄层色谱法(中国药典2000年版一部附录VI B)试验,吸取上述3种溶液各5 μL,分别点于同一用0.5%氢氧化钠溶液制备的硅胶G薄层板上,以醋酸乙酯-甲醇-水(100:17:13)为展开剂,展至约5 cm,取出,晾干,再以甲苯-醋酸乙酯-甲酸-水(20:10:1:1)的上层溶液为展开剂,展至约8 cm,取出,晾干,喷以三氯化铝试液,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。缺陈皮的阴性样品无干扰。

2.2 橙皮苷的含量测定^[3]

2.2.1 色谱条件与系统适应性试验 色谱柱:VP-ODS柱(5 μm,150 mm×4.6 mm),预柱10 mm×4.6 mm。流动相:乙腈-水-磷酸(180:820:0.1)。流速:2.0 mL·min⁻¹,检测波长:284 nm,环境温度:25℃。在选定条件下,橙皮苷和样品中其他组分色谱峰可基线分离,与其相邻色谱峰的分度度大于1.5;按橙皮苷峰计算,理论塔板数(N)达1100,与其他组分的峰基本分离,且阴性对照无干扰。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取橙皮苷对照品适量,加甲醇制成每1 mL含80 μg的溶液,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备

2.2.3.1 提取方法的考察 溶媒参照文献采用石油醚脱脂,甲醇提取,提取以回流、超声处理两种方法。

回流法:称取本品(批号020901)内容物约10 g,精密称定,置索氏提取器中加石油醚(60~90℃)适量,回流脱脂2 h(近无色),药渣挥干,精密加甲醇100 mL,精密称定,回流提取4 h(近无色),并用甲醇补足减失的重量,滤过,弃去初滤液,精密量取续滤液50 mL,甲醇定容至100 mL,精密吸取供试品溶液20 μL,注入液相色谱仪,测定。结果见表1。

超声处理法:称取本品(批号020901)内容物约10 g,精密称定,置100 mL磨口瓶中,加入石油醚(60~90℃)30 mL,超声处理20 min脱脂,挥去溶剂,精密加入甲醇50 mL,精密称定,超声提取30 min,放冷,密塞,并用甲醇补足减失的重量,滤过,弃去初滤液,精密量取续滤液25 mL,甲醇定容至100 mL,精密吸取供试品溶液20 μL,注入液相色谱仪,测定。结果见表1。

表1 不同提取方法的比较 (n=3)

Tab 1 Comparison of different extract methods (n=3)		
提取方法	超声处理	回流
橙皮苷/(mg·粒)	0.67	0.63

以上结果表明,超声处理比回流提取的提取率高,故确定提取方法为超声提取。

2.2.3.2 提取时间的考察 分别称取本品约10 g,精密称定,置100 mL磨口瓶中,加入石油醚(60~90℃)30 mL,超声处理20 min脱脂,精密加入甲醇50 mL,精密称定,分别超声提取10,20,30,40 min,放冷,密塞,并用甲醇补足减失的重量,滤过,弃去初滤液,精密量取续滤液25 mL,甲醇定容至100 mL,精密吸取供试品溶液20 μL,注入液相色谱仪,测定。

结果见表 2。

表 2 不同超声时间的比较 (n = 3)

Tab 2 Comparison of different supersound times(n = 3)				
超声时间 /m in	10	20	30	40
橙皮苷含量 /(mg 粒)	0. 66	0. 67	0. 67	0. 66

以上结果表明 ,超声处理 10 ~ 40 m in,含量无明显变化 ,为了保证提取完全 ,故确定超声处理时间为 30 m in。

2. 2. 4 阴性对照溶液的制备 按制备工艺制备缺陈皮的阴性样品 ,按供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。

2. 2. 5 干扰试验 照上述色谱条件 ,吸取对照品溶液 ,供试表 3 线性关系考查结果

Tab 3 Presentation of linear rang									
进样量 /μg	0. 1542	0. 3084	0. 4626	0. 6168	0. 771	0. 9252	1. 0794	1. 2372	1. 3878
峰面积 /A	60812	92677	122211	153103	183128	213399	245989	284236	319873

以上表明 ,在 0. 1542 ~ 1. 542 μg 范围内 ,橙皮苷峰面积值与进样量有良好的线性关系。

2. 2. 7 精密度试验 取同一供试品溶液 ,重复进样 5 次 ,橙皮苷峰面积值的 RSD < 2 % ,结果见表 4。

表 4 精密度试验结果

Tab 4 Results of precision tests						
编号	1	2	3	4	5	RSD /%
峰面积	282382	279840	279829	278386	286727	1. 2

试验表明 ,精密度良好。

2. 2. 8 重复性试验 按上述测定方法对本品 (020901)平行测定 5 次 ,测得每粒橙皮苷含量的 RSD < 2 % 。结果见表 5。

表 5 重复性试验结果

Tab 5 Results of repeation tests						
编号	1	2	3	4	5	RSD /%
橙皮苷含量 /(mg 粒)	0. 67	0. 69	0. 69	0. 66	0. 67	1. 98

2. 2. 9 稳定性试验 取同一份供试品溶液 ,分别于 0, 4 及 8 h,重复进样 ,测得样品中橙皮苷峰面积值的 RSD < 2 % 。结果见表 6。

表 6 稳定性试验结果

Tab 6 Results of stability tests				
测定时间 /h	0	4	8	RSD /%
峰面积	282602	280833	280967	0. 4

试验结果表明 ,样品供试液在 8 h 内稳定性良好。

2. 2. 10 加样回收率试验 分别称取本品 (批号 020901)内容物约 6. 5, 7. 5, 8. 0 g,精密称定 ,置 100 mL 磨口瓶中 ,分别精密加入对照品溶液 (0. 636 mg • mL⁻¹) 3, 5, 7 mL,按上述样品制备方法和色谱条件 ,制备加样回收供试品溶液并注入高效液相色谱仪 ,以下列公式计算回收率 ,结果见表 7。

回收率 /% = $\frac{\text{测得量 (mg)} - \text{制剂中含量 (mg)}}{\text{加入对照品量 (mg)}} \times 100\%$

品溶液 ,阴性对照溶液各 20 μL,分别注入色谱仪。供试品色谱中 ,在与对照品色谱图相应的位置上 ,有相同保留时间的色谱峰 ,而阴性对照色谱图在此保留时间无干扰。

2. 2. 6 线性范围考察 分别精密称取橙皮苷对照品 7. 71 mg,置 100 mL 量瓶中 ,用甲醇溶解并稀释至刻度 ,摇匀。分别精密吸取对照品溶液 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 mL 于 10 mL 量瓶中 ,用甲醇稀释至刻度 ,摇匀 ,作为对照品溶液 ,在上述色谱条件下 ,分别进样 20 μL,记录色谱图 ,测定其峰面积。结果见表 3,以峰面积值 (A)为纵坐标 ,进样量 (C)为横坐标绘制标准曲线 ,测得回归方程为 : A = 205806C + 27122, r = 0. 999 4。

表 7 加样回收率试验结果

Tab 7 Results of recover tests					
编号	样重 /g	含橙皮苷 /mg	加入橙皮苷量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%
1	8. 2726	12. 317	1. 908	14. 17	97
2	8. 2464	12. 278	1. 908	14. 18	99
3	8. 0999	12. 060	1. 908	13. 89	96
4	7. 5203	11. 197	3. 180	14. 53	105
5	7. 4948	11. 159	3. 180	14. 37	101
6	7. 3611	10. 96	3. 180	14. 14	100
7	6. 7835	10. 10	4. 452	14. 68	103
8	6. 7365	10. 03	4. 452	14. 52	101
9	6. 6022	9. 83	4. 452	14. 26	99

试验结果表明 :回收率在 96 % ~ 105 % 之间 ,加样回收良好。

2. 2. 11 样品测定 分别取本品三批内容物约 10 g,精密称定 ,加入石油醚 (60 ~ 90℃) 50 mL,超声处理 20 m in 脱脂 ,精密加入甲醇 50 mL,精密称定重量 ,超声提取 30 m in,放冷 ,密塞 ,精密称定重量 ,并用甲醇补足减失的重量 ,滤过 ,弃去初滤液 ,精密量取续滤液 25 mL 甲醇定容至 100 mL,精密吸取上述对取照品溶液与供试品溶液各 20 μL,注入液相色谱仪 ,测定 ,计算。结果见表 8。

表 8 样品中橙皮苷含量测定结果 (n = 3)

Tab 8 Results of detem ining the content of Hesperidin in the samples(n = 3)		
批 号	橙皮苷含量 /(mg 粒)	RSD /%
020901	0. 66	1. 1
020902	0. 67	1. 5
020903	0. 71	0. 8

2. 2. 12 药材橙皮苷的含量测定 称取药材粉末约 0. 2 g,

精密称定,置 50 mL量瓶中,加甲醇 40 mL超声处理 30 min,放冷后,加甲醇到刻度,过滤,取续滤液作为药材供试品溶液,照正文所述色谱条件,取橙皮苷对照品溶液 20 μ L和药材供试品溶液适量,注入高效液相色谱仪,记录色谱图,按峰面积值用外标法计算含量。结果见表 9。

表 9 三批药材的橙皮苷含量测定结果 ($n=3$)

Tab 9 Results of determining the content of Hesperidin in the three batches of medicinal materials($n=3$)

批号	橙皮苷含量 /%	RSD /%
1	4.3	1.2
2	4.9	0.8
3	4.5	0.8

3 讨论

方中陈皮为主药,橙皮苷为其主要有效成分,故选择橙皮苷作为含量测定的指标成分。以上结果表明,用 TLC鉴定

藿香祛暑软胶囊中的广藿香、丁香、白芷、陈皮方法可靠,可作为藿香祛暑软胶囊质量标准的鉴别方法;用 HPLC方法测定藿香祛暑软胶囊中的橙皮苷含量方法可行,精密度、稳定性、回收率试验良好,可作为藿香祛暑软胶囊质量标准中的橙皮苷的含量测定方法。

参考文献

[1] 中华人民共和国卫生部药典委员会.中华人民共和国卫生部药品标准·中药成方制剂(第二十册)[S].1998:380.
[2] Ch. P(2000) Vol I (中国药典 2000年版.一部)[S]. 2000:3, 79,148.
[3] 苗明三.现代实用中药质量控制技术.北京:人民卫生出版社, 577.

收稿日期:2006-01-05