

产后益母丸质量标准研究

郭巧技, 黎雪清, 刘吉金, 熊英(深圳市药品检验所, 广东 深圳 518029)

摘要: 目的 建立产后益母丸质量控制方法。方法 采用薄层色谱法对制剂中的益母草、当归、川芎、赤芍、延胡索进行定性鉴别;采用高效液相色谱法测定制剂中芍药苷的含量。结果 薄层色谱显色清晰且阴性对照无干扰。芍药苷在 0.012 88~0.515 2 mg·mL⁻¹ 内呈良好的线性关系, 平均回收率为 102.0%, RSD=1.6%。结论 本法操作简便, 结果准确、重复性好, 可用于产后益母丸的质量控制。

关键词: 高效液相色谱法; 薄层色谱法; 产后益母丸

中图分类号: R943.3 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2010)04-0345-03

The Quality Standards Study of Chanhou Yimu Pills

GUO Qiaoji, LI Xueqing, LIU Jijin, XIONG Ying (Shenzhen Institute for Drug Control, Shenzhen 518029, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To develop a method of quality control for Chanhou Yimu pills. **METHODS** Herba Leonuri, Radix Angelicae Sinensis, Rhizoma Chuanxiong, Radix Paeoniae Rubra and Rhizoma Cortdalis were identified by TLC. HPLC was used for determination of paeoniflorin. **RESULTS** The chromatographic spots were identified without the interference of negative control. Paeoniflorin had a good linearity over the concentration range of 0.012 88–0.515 2 mg·mL⁻¹, the average recovery was 102.0% with RSD of 1.6%. **CONCLUSION** This method was found to be reliable, accurate and specific. It can be used for the quality control of Chanhou Yimu pills.

KEY WORDS: HPLC; TLC; Chanhou Yimu pills

产后益母丸为益母草、当归、川芎、赤芍等 9 味药材组成的成方制剂, 具有活血化瘀, 理气和血功能。因原标准^[1]仅收录了当归及延胡索的薄层色谱鉴别以及丸剂的通则检查, 为了提高中成药的检测标准, 修订了当归、川芎、延胡索的薄层色谱鉴别, 增加了益母草、赤芍的薄层色谱鉴别及芍药苷的 HPLC 含量测定。结果表明, 该方法简便、准确、稳定且无干扰, 可作为该制剂的质量控制方法。

1 仪器与试剂

岛津 LC-20AD 高效液相色谱仪, SPD-M20A 检测器; 赛多利斯 CP224S 电子天平; 梅特勒-托利多 XS205 电子天平。盐酸水苏碱对照品(批号: 748-200406)、芍药苷对照品(批号: 110736-200732, 纯度: 98.1%)、当归对照药材(批号: 120927-200613)、川芎对照药材(批号: 120918-200406)、延胡索对照药材(批号: 120928-200604)、赤芍对照药材(批号: 121093-200402)均由中国药品生物制品检定所提供; 产后益母丸(批号: 051003、070101、070702)由河南省禹州市药王制药有限公司提供。水为超纯水, 乙醇为色谱纯, 实验中所用的其它试剂均为分

析纯。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

2.1.1 益母草的鉴别 取本品 1 丸, 剪碎, 加硅藻土 3 g, 研匀, 加乙醇 30 mL, 密塞, 超声处理 30 min, 放冷, 滤过, 滤渣用乙醇 10 mL 分次洗涤, 合并滤液, 蒸干, 残渣加水 5 mL 使溶解, 用盐酸调 pH 值至 1~2, 加于已处理好的强酸性阳离子交换树脂柱(内径 1.5 cm, 高 15 cm)上, 用水洗脱至无色, 弃去水液, 再以氨水-水(20:80)200 mL 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣加乙醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取盐酸水苏碱对照品适量, 加乙醇制成每 1 mL 含 1 mg 溶液, 作为对照品溶液。同时按处方及制法, 制成缺益母草对照样品, 取相当于供试品的量, 按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法^[2]试验, 吸取上述相应溶液各 10 μL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以丙酮-无水乙醇-盐酸(10:10:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以新配制的稀碘化铋钾-1%三氯化铁无水乙醇溶液(2:1)的混合溶液, 冷风吹干至斑点清晰, 日光下检视, 见图 1。

作者简介: 郭巧技, 女, 主管药师 Tel: (0755)25874446 E-mail: guoqiao128@126.com

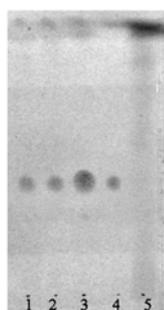


图1 益母草薄层色谱图
1~3-供试品溶液; 4-对照品; 5-阴性对照溶液

Fig 1 TLC of Herba Leonuri

1-3-test samples; 4-stachydrine hydrochloride standard; 5-negative control

2.1.2 延胡索、当归、川芎的鉴别 取本品2丸, 剪碎, 加硅藻土5g, 研匀, 加乙醇50mL, 加热回流1h, 放冷, 滤过, 滤液蒸至近干(稠膏状), 加水10mL使溶解, 加氨试液使呈碱性, 用乙醚提取2次, 每次20mL, 合并乙醚提取液, 挥干, 残渣加乙醇1mL使溶解, 作为供试品溶液。另取当归对照药材、川芎对照药材、延胡索对照药材各0.5g, 分别加乙醚20mL, 超声处理20min, 滤过, 滤液挥干, 残渣加乙醇1mL使溶解, 作为对照药材溶液。再按处方及制法, 分别制成缺延胡索阴性、当归川芎双阴性的对照样品, 取相当于供试品的量, 按供试品溶液的制备方法分别制成阴性对照溶液。照薄层色谱法^[2]试验, 吸取上述相应溶液各5 μ L, 分别点于同一硅胶G薄层板上, 以正己烷-氯仿-甲醇-二乙胺(10:6:1:0.05)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置碘缸中约3min后取出, 挥尽板上吸附的碘后, 置紫外光灯(365nm)下检视, 见图2。

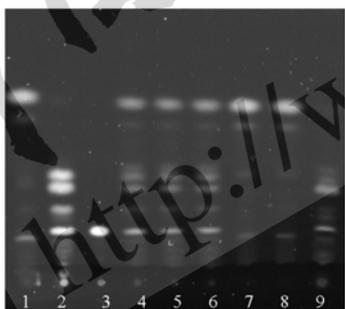


图2 延胡索、当归、川芎薄层色谱图
1-缺延胡索阴性对照溶液; 2-延胡索对照药材溶液; 3-延胡索乙素; 4~6-供试品溶液; 7-当归对照药材溶液; 8-川芎对照药材溶液; 9-缺当归、川芎双阴性对照溶液

Fig 2 TLC of Rhizoma Cortdalis, Radix Angelicae Sinensis and Rhizoma Chuanxiong

1-Rhizoma Cortdalis negative control; 2-Rhizoma Cortdalis standard; 3-Tetrahydropalmatine standard; 4-6-test samples; 7-Radix Angelicae Sinensis standard; 8-Rhizoma Chuanxiong standard; 9-Radix Angelicae Sinensis and Rhizoma Chuanxiong negative control

2.1.3 赤芍的鉴别 取产后益母丸1丸, 剪碎, 加硅藻土3g, 研匀, 加乙醇30mL, 超声处理15min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水5mL使溶解, 加在D101型大孔树脂柱(1.5cm \times 10cm)上, 用水洗至无色, 弃去水液, 再用70%乙醇50mL洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣加乙醇1mL使溶解, 作为供试品溶液。另取芍药苷对照品, 加乙醇制成每1mL含1mg的溶液, 作为对照品溶液。再取赤芍对照药材0.5g, 加乙醇30mL, 按供试品溶液的制备方法制成对照药材溶液。同时按处方及制法, 制成缺赤芍的对照样品, 取相当于供试品的量, 按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法^[2]试验, 吸取上述相应溶液各5 μ L, 分别点于同一硅胶G薄层板上, 以二氯甲烷-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, 在105 $^{\circ}$ C加热至斑点显色清晰, 日光下检视, 见图3。

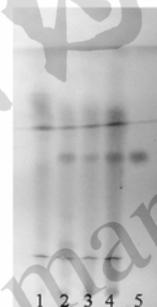


图3 赤芍薄层色谱图
1-缺赤芍阴性对照溶液; 2~4-供试品溶液; 5-芍药苷对照品溶液

Fig 3 TLC of Radix Paeoniae Rubra
1-negative control; 2-4-test samples; 5-paeoniflorin standard

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱: CAPCELL PAK C₁₈(4.6mm \times 25mm, 5 μ m), 流动相: 乙腈-水(12.5:87.5), 流速: 1.0mL \cdot min⁻¹, 检测波长: 232nm。

2.2.2 对照品溶液的制备 取芍药苷对照品适量, 精密称定, 加稀乙醇制成每1mL含0.05mg的溶液, 摇匀, 即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品适量, 剪碎, 混匀, 取1g, 精密称定。置具塞锥形瓶中, 精密加入稀乙醇25mL, 称定重量, 置水浴上加热回流40min, 放冷, 再称定重量, 用稀乙醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.4 线性关系 取芍药苷对照品, 分别制成浓度为0.01264, 0.05054, 0.10108, 0.20216, 0.5054mg \cdot mL⁻¹的对照品溶液。精密吸取上述对照

品溶液各 10 μL , 注入液相色谱仪, 记录峰面积, 以对照品的浓度为横坐标, 测得的峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程: $Y=1.30 \times 10^7 X-4.89 \times 10^4$, $r=1.000$ 。结果表明, 芍药苷对照品浓度在 0.012 88~0.515 2 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内与其峰面积呈良好的线性关系。

2.2.5 专属性 精密吸取芍药苷对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各 10 μL , 分别注入液相色谱仪测定。结果未见阴性对照溶液对试验有干扰, 见图 4。

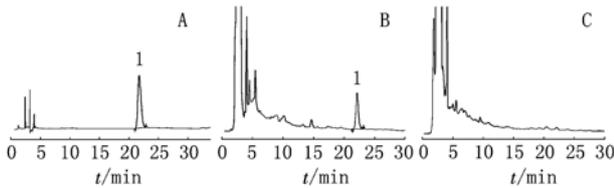


图 4 高效液相色谱图

A-对照品; B-供试品; C-阴性对照样品; 1-芍药苷

Fig 4 HPLC chromatogram

A-control; B-sample; C-negative control; 1-paeoniflorin

2.2.6 重复性考察 取同一批供试品 6 份, 按“2.2.3”项下方法处理, 进样测定。结果芍药苷含量平均值为 0.68 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 为 1.5%, 表明重复性良好。

2.2.7 回收率试验 取同一批已知含量的供试品 6 份, 分别精密加入一定量的芍药苷对照品, 按“2.2.3”项下方法处理, 进样测定, 结果见表 1。

表 1 回收率试验结果($n=6$)

Tab 1 Results of recovery tests ($n=6$)

已知量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均值/ %	RSD/ %
0.345 0	0.328 5	0.680 3	102.1		
0.340 7	0.328 5	0.675 1	101.8		
0.344 8	0.328 5	0.685 6	103.7	102.0	1.6
0.345 0	0.328 5	0.683 7	103.1		
0.341 2	0.328 5	0.677 5	102.4		
0.342 2	0.328 5	0.667 1	98.9		

2.2.8 稳定性试验 取同 1 份供试品溶液, 自制备后, 分别在 0, 2, 6, 10, 24 h 进样测定。结果测得的芍药苷峰面积的 RSD 为 0.6%, 表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.2.9 样品测定 取本品 3 批, 批号为 051003、070101、070702, 每批平行测定 2 份, 按“2.2.3”项下方法处理, 进样测定, 结果其含量分别为 0.78,

0.68, 0.75 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

3 讨论

原标准中记载了当归及延胡索的薄层色谱鉴别。由于当归及川芎均为伞形科植物, 所含成分极为相似, 因此考虑在同一色谱条件下同时鉴别当归、川芎及延胡索。

本试验曾考察了超声处理 30 min 和加热回流 30 min, 其余同法操作。结果显示, 以加热回流的提取方法效率最高。对样品的回流时间进行了考察, 分别考察加热回流 20, 40, 60 min 的结果, 其余同法操作。结果显示, 回流提取 40 min 与提取 60 min 结果相当, 故提取时间选择 40 min。

图 4 中 C, 在与芍药苷保留时间一致处也有小峰, 但峰面积只有供试品的 3% 左右。根据中国药典中药质量标准研究制定技术要求, 专属性实验(制剂)以不含被测成分的供试品试验, 其含量测定数值应小于同样条件下供试品测定数值的 5%, 因此可认为无干扰。

根据国家药典委员会下达的国家药品标准提高行动计划中成药品种增修订项目任务表要求, 拟增订产后益母丸中盐酸水苏碱的含量测定(薄层扫描法)。考虑到本品含有大量炼蜜, 难将盐酸水苏碱与之分离, 因此采用酸水溶解供试品, 通过强酸性阳离子交换树脂进行净化处理^[3], 测定本品益母草中的盐酸水苏碱含量(薄层扫描法), 结果发现该方法的重复性不好, 样品中盐酸水苏碱的含量不稳定。综合实验及有关文献^[4], 控制盐酸水苏碱含量无实际意义。因此本标准不载益母草中盐酸水苏碱的含量测定。

REFERENCES

- [1] Chinese Traditional Patent Medicine of Drug Specifications Promulgated by the Ministry of Public Health, P R China. Vol.10 (卫生部药品标准中药成方制剂第十册)[S]. 1995: 58.
- [2] Ch.P (2005) Vol I (中国药典 2005 年版.一部)[S]. 2005: Appendix VI B.
- [3] ZHU Y G, YANG Z Y, WANG S Q. Determination of stachydrine hydrochloride in Qinggong Zhibeng granules by HPLC [J]. Chin Pharm Aff (中国药事), 2006, 20 (6): 356-357.
- [4] DONG Y W, XU L Q. The influence of storing time to alkaloid in Herba leonuri [J]. J Chin Med Mater (中药材), 1989, 12(4): 28-29.

收稿日期: 2009-06-15