

尪痹丸胶囊质量控制方法研究

黄晓文, 余旭辉, 王李平, 范华均*

(广东药学院药科学院, 广州 510006)

[摘要] **目的:**建立尪痹丸胶囊的质量控制方法。**方法:**采用薄层色谱法(TLC)对尪痹丸胶囊中的肉桂、桂枝、白芍、赤芍和防风进行定性鉴别;采用高效液相色谱法(HPLC)分别对尪痹丸胶囊中蛇床子素、桂皮醛和肉桂酸进行含量测定。**结果:**肉桂和桂枝的化学组成成分相近,TLC能清晰鉴别出桂皮醛;白芍、赤芍和防风药材的TLC鉴别的色谱斑点清晰,阴性无干扰;HPLC测定蛇床子素、桂皮醛和肉桂酸含量,其浓度分别在1.0~200.0,5.0~100.0,0.50~15.0 mg·L⁻¹呈良好的线性关系,平均回收率和RSD分别在98.16%~101.6%,1.8%~3.0%。**结论:**方法灵敏、简便、准确,可作为尪痹丸胶囊质量控制的方法。

[关键词] 尪痹丸胶囊;质量标准;薄层色谱;高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)21-0099-05

Study on Quality Control for Wangbiwan Capsules

HUANG Xiao-wen, SHE Xu-hui, WANG Li-ping, FAN Hua-jun*

(College of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the methods of quality control for Wangbiwan capsules. **Method:** Cortex Cinnamomum, Ramulus Cinnamomi, Radix Paeoniae Alba, Radix Paeoniae Bubra and Radix Saposhnikoviae were identified by TLC; and the content of osthole, cinnamaldehyde and cinnamic acid in Wangbiwan capsules was determined by HPLC. **Result:** TLC spots developed were fairly clear and the blank tests showed no interference for Radix Paeoniae Alba, Paeonia lactiflora Pall and Radix Saposhnikoviae, but similar component in TLC were found for Cinnamomum cassia and Ramulus Cinnamomi. The linear ranges of osthole, cinnamaldehyde and cinnamic acid were 1.0-200, 5.0-100.0 and 0.50-15.0 mg·L⁻¹ respectively with average recovery of 98.16%-101.6%, RSD of 1.9%-3.0%. **Conclusion:** The TLC and HPLC methods were simple, accurate and fast, which could be used effectively for the quality control of Wangbiwan capsules.

[Key words] Wangbiwan capsules; quality standard; TLC; HPLC

尪痹丸胶囊是由肉桂、赤芍、白芍、桂枝、防风、独活、当归等多味药材制成的传统中药复方制剂,具有行气通络定痛、祛风除湿的功效。目前该胶囊未制定任何质量控制的标准。为了更好地控制该胶囊的质量,保证药物质量和疗效,有必要对复方中有效

成分进行鉴别和含量测定。目前薄层色谱法(TLC)、高效液相色谱法(HPLC)、气相色谱法和色谱质谱联用等方法常用于中药及其制剂质量控制^[1-3]。本文对方中肉桂、桂枝、白芍、赤芍和防风进行了TLC鉴别;采用HPLC对制剂中的桂皮醛、肉桂酸及蛇床子素进行含量测定^[5-10],可作为尪痹丸胶囊质量控制的方法。

1 仪器与试剂

LC-10 AVP 高效液相色谱仪(日本岛津公司), SPD-10 AVP 型紫外检测器, SB-5200D 型超声波清洗器(宁波新芝生物科技股份有限公司)。

尪痹丸胶囊、肉桂、桂枝、白芍、赤芍、防风等对照药材(香港联益药业有限公司提供),蛇床子素

[收稿日期] 20111006(002)

[基金项目] 广东药学院“重点培养青年教师”师资队伍建设项目(52104109)

[第一作者] 黄晓文, 实验师, 从事药物分析研究, Tel: 020-39352135, E-mail: xiaowenh25@126.com

[通讯作者] * 范华均, 博士, 教授, 从事药物提取及分析研究, Tel: 020-39352135, E-mail: junhuaufan@126.com

(批号 110822-200305), 桂皮醛(批号 110710-200714)和肉桂酸(批号 110786-200503)对照品购自中国药品生物制品检定所。硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工厂), 甲醇为色谱纯, 水为重蒸馏水, 实验所用的其他试剂均为分析纯。

2 薄层色谱鉴别

2.1 肉桂和桂枝的鉴别 取本品 10 g, 加乙醇 80 mL, 超声处理 1 h, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加乙醇 5 mL 使其溶解, 作为供试品溶液。

分别取肉桂、桂枝对照药材粉末 0.5 g, 分别加乙醇 10 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加乙醇 2 mL 使其溶解, 作为对照药材溶液。

取桂皮醛对照品, 加乙醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液, 即得桂皮醛对照品溶液。

分别取处方组成中除肉桂和桂枝外的其余药材 10 g, 照上述供试品溶液制备方法操作所得溶液作为阴性对照溶液。

薄层色谱法参照《中国药典》^[4], 分别吸取 3 种供试品溶液及阴性对照溶液各 4 ~ 8 μL 、肉桂和桂枝对照药材溶液及桂皮醛对照品溶液各 2 μL , 分别点于硅胶 G 薄层板上, 以石油醚(60 ~ 90 $^{\circ}\text{C}$)-醋酸乙酯(17:3)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 2,4-二硝基苯肼乙醇溶液。在供试品色谱中, 与对照药材、对照品及阴性对照品色谱相应的位置上发现显相同颜色的斑点, 阴性对照发现肉桂和桂枝有淡淡的相同斑点。但当同时不加肉桂和桂枝提取得到的阴性对照结果在相同位置没有斑点, 表明 2 种药材均含有桂皮醛, 因为肉桂和桂枝分别是同一药材的树皮和枝叶, 同一药材的不同部位入药, 应以不含该药材作为阴性对照较为合理。

2.2 白芍和赤芍的鉴别 取白芍、赤芍对照药材粉末 0.5 g, 照上述 2.1 项下对照药材制备方法操作, 即得作为对照药材溶液。

取芍药苷对照品, 加乙醇制成每 1 mL 含 2 mg 的溶液, 即得芍药苷对照品溶液。

分别取处方组成中除白芍和赤芍外的其余药材 10 g, 照上述供试品溶液制备方法操作所得溶液作为阴性对照溶液。

薄层色谱法参照《中国药典》^[4], 分别吸取 3 种供试品溶液及阴性对照溶液各 4 μL 、白芍(赤芍)对照药材溶液及芍药苷对照品溶液各 2 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-醋酸乙酯-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 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色

清晰。供试品色谱中, 在与对照药材、对照品及阴性对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 而阴性对照在相应位置未检出斑点。

2.3 防风药材的鉴别 取本品内容物 5 g, 加丙酮 50 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加丙酮 5 mL 使溶解, 作为供试品溶液。取防风对照药材粉末 1 g, 加丙酮 20 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加丙酮 2 mL 使溶解, 作为对照药材溶液。取缺防风的阴性样品粉末 5 g, 照上述供试品溶液制备方法操作所得溶液作为阴性对照溶液。薄层色谱法参照《中国药典》^[4], 吸取上述供试品溶液, 阴性对照溶液和对照药材溶液各 3.5, 3.5, 2.5 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚-乙酸乙酯(37:13)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 在 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰, 置于紫外光灯(365 nm)下检视。3 批供试品色谱图中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点, 而阴性对照在相应位置未检出斑点。

3 桂皮醛、肉桂酸及蛇床子素的含量测定

3.1 色谱条件 桂皮醛和肉桂酸色谱条件: Symmetry[®] C₁₈ 色谱柱(4.6 mm \times 150 mm, 5 μm), 流动相乙腈(A)-水(pH 3.00, 用醋酸调节)(B), 梯度洗脱程序(0 ~ 10 min, 25% A; 10 ~ 11 min, 25% ~ 30% A; 11 ~ 31 min, 30% A; 31 ~ 31.5 min, 30% ~ 55% A; 31.5 ~ 33 min, 55% ~ 90% A; 33 ~ 53 min, 90% ~ 100% A), 检测波长 290 nm, 流速 1.00 mL \cdot min⁻¹, 柱温 25 $^{\circ}\text{C}$, 进样量 20 μL 。理论塔板数按桂皮醛峰计算不低于 7 000, 按肉桂酸峰计算不低于 3 000。

蛇床子素色谱条件: Symmetry[®] C₁₈ 色谱柱(4.6 mm \times 150 mm, 5 μm), 流动相甲醇-水(65:35), 检测波长 322 nm, 流速 1.0 mL \cdot min⁻¹, 柱温 25 $^{\circ}\text{C}$, 进样量 20 μL 。在此色谱条件下, 理论塔板数按蛇床子素峰计算不低于 3 600。

3.2 对照品溶液的制备 精密称取肉桂酸、桂皮醛对照品适量, 加乙醇溶解制成质量浓度分别为 1.000 g \cdot L⁻¹ 和 0.100 g \cdot L⁻¹ 的溶液, 即得肉桂酸和桂皮醛的对照品贮备溶液。

精密称取蛇床子素对照品适量, 用甲醇定容至 10 mL, 即得 1.000 g \cdot L⁻¹ 的蛇床子素对照品贮备液。

3.3 供试品溶液的制备 精密称取胶囊内容物 2 g, 置于具塞圆底烧瓶中, 加甲醇 120 mL, 加热回流处理 30 min, 放冷, 滤过, 滤液旋干, 残渣加甲醇溶解, 转移至 10 mL 量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜

(0.45 μm)过滤,取续滤液,即得供试品溶液I。

精密称取胶囊内容物 1 g,加乙醚 30 mL,密塞,以 250 W,40 kHz 超声处理 30 min,滤过,滤液旋干,残渣加甲醇溶解,转移至 5 mL 量瓶中,并稀释至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)过滤,取续滤液,即得供试品溶液 II。

3.4 阴性对照溶液的制备 按处方比例制备不含除肉桂和桂枝的阴性供试品,按供试品溶液的制备方法处理得阴性对照品溶液 I;同样再按供试品溶液 II 法制备得到缺独活的阴性对照品溶液 II。

3.5 色谱分离试验 精密吸取肉桂酸和桂皮醛对照品溶液、供试品溶液 I 和阴性对照溶液 I 各 20 μL,分别注入液相色谱仪,按色谱条件进样测定,结果见图 1,2。

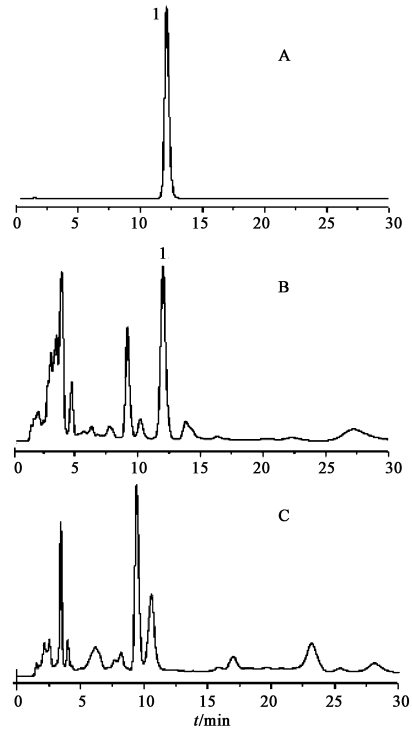


图2 蛇床子素(1)对照品(A)、尪痹丸胶囊(B)和缺独活的阴性对照品 II (C)的 HPLC

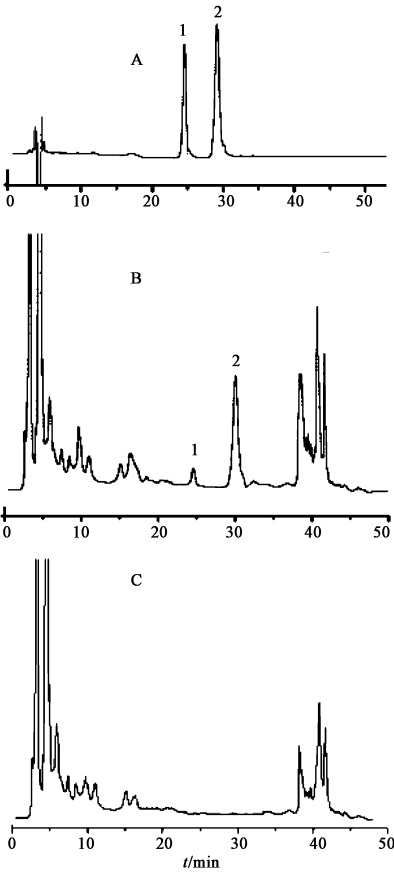


图1 肉桂酸(1)和桂皮醛(2)对照品(A)、尪痹丸胶囊(B)、缺肉桂和桂枝阴性对照品 I (C)的 HPLC

由图 1,2 可知,肉桂酸、桂皮醛和蛇床子素与其相邻组分峰达到基线分离,其保留时间分别为 24.575,29.158,12.198 min,阴性对照品溶液对试验没有干扰,说明本方法具有专属性。

3.6 线性关系考察 由肉桂酸、桂皮醛和蛇床子素对照品贮备液分别稀释配制成 0.50, 1.00, 2.00, 5.00, 10.0, 15.0; 5.00, 10.0, 20.0, 40.0, 80.0,

100.0;1.00,5.00,10.0,50.0,100.0,200.0 mg·L⁻¹ 等一系列不同浓度的对照品溶液,分别吸取 20 μL 进样,记录色谱峰面积,以对照品溶液浓度 C(mg·L⁻¹)对峰面积 A 进行线性回归,得到肉桂酸的回归方程、相关系数和检出限,见表 1。

表1 肉桂酸、桂皮醛和蛇床子素的回归方程、线性范围和检出限

对照品	回归方程	r	线性范围 /mg·L ⁻¹	检出限 /mg·L ⁻¹
肉桂酸	A = 133 585C - 24 775	0.999 8	0.50 ~ 15.0	0.076 2
桂皮醛	A = 168 912C - 33 768	0.999 9	5.0 ~ 100.0	0.157
蛇床子素	A = 75 152C - 49 313	0.999 8	1.0 ~ 200.0	0.086 6

3.7 精密度试验 取一定浓度的桂皮醛、肉桂酸和蛇床子素对照品溶液,分别各自连续进样 6 次,记录峰面积,并计算 RSD(n=6)。结果表明,桂皮醛、肉桂酸和蛇床子素的 RSD 分别为 1.14%, 1.24%, 0.12%,说明仪器精密度良好。

3.8 稳定性试验 取同一批号的供试品溶液 I 和 II 在各自条件下,于 0,2,4,6,8,10 h 分别进样 20 μL,记录峰面积,分别计算桂皮醛、肉桂酸和蛇床子素的含量。结果表明,桂皮醛、肉桂酸和蛇床子素的 RSD(n=6)分别为为 0.88%, 1.41%, 0.57%,表明供试品溶液 I 和 II 均在 10 h 内稳定。

3.9 重复性试验 取同一批号样品 6 份,按样品提取法分别制备供试品溶液 I 和 II,测定,结果肉桂酸的平均含量为 $0.0586 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,RSD 0.82%;桂皮醛的平均含量为 $0.2254 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,RSD 1.79%;蛇床子素平均含量为 $0.3148 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,RSD 2.55%。表明

各自的分析方法精密度良好。

3.10 加样回收试验 精密称取尪痹丸样品 6 份,加入相应量的桂皮醛、肉桂酸和蛇床子素对照品,分别按供试品溶液 I 和 II 的制备方法处理并测定,计算回收率,结果见表 2。

表 2 尪痹丸胶囊加样回收率试验($n=6$)

成分	取样量 /g	加入量 /mg	样品中含量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
肉桂酸	1.000 5	0.030 48	0.029 3	0.059 33	98.51	98.16	2.2
	1.000 3	0.030 48	0.029 3	0.059 55	99.25		
	1.000 3	0.030 48	0.029 3	0.060 08	100.98		
	1.000 4	0.030 48	0.029 3	0.058 45	95.64		
	1.000 2	0.030 48	0.029 3	0.058 38	95.41		
	1.000 5	0.030 48	0.029 3	0.059 53	99.18		
桂皮醛	1.000 5	0.112 9	0.112 7	0.224 3	98.85	101.6	3.0
	1.000 3	0.112 9	0.112 7	0.228 6	102.66		
	1.000 3	0.112 9	0.112 7	0.230 6	104.43		
	1.000 4	0.112 9	0.112 7	0.227 0	101.24		
	1.000 2	0.112 9	0.112 7	0.222 7	97.43		
	1.000 5	0.112 9	0.112 7	0.231 2	104.96		
蛇床子素	0.500 4	0.075 2	0.078 8	0.153 0	98.67	99.93	1.8
	0.500 3	0.075 2	0.078 8	0.154 3	100.40		
	0.500 5	0.075 2	0.078 8	0.155 4	101.86		
	0.500 3	0.075 2	0.078 8	0.152 8	98.40		
	0.500 5	0.075 2	0.078 8	0.155 6	102.13		
	0.500 7	0.075 2	0.078 8	0.152 6	98.14		

3.11 样品测定 另取尪痹丸胶囊 3 批,分别按供试品溶液 I 和 II 的制备方法处理,分别进样 20 μL ,注入液相色谱仪,按色谱条件进行测定,3 批样品的含量测定结果见表 3。

4 讨论

尪痹丸胶囊的薄层色谱鉴别表明,色谱斑点清晰、无阴性干扰,但肉桂和桂枝含有相同的组分,阴性对照试验会对鉴别有干扰,由于两者是同一药材不同部位,且是处方中的关键药材,建议缺肉桂和桂枝进行阴性对照应试验。

采用薄层色谱法对防风进行鉴别时,发现展开后的薄层板挥干后,如果直接置紫外光灯(365 nm)下检视,斑点很模糊,且不能将对照药材相对应的斑点完全分开。通过调整展开剂比例为石油醚-乙酸乙酯(37:13)后,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,并在 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热后再观察荧光,结果发现在供试品色谱中,与对照药材色谱相应的位置上呈现出清晰斑点。

表 3 尪痹丸胶囊的测定($n=3$)

批号	桂皮醛		肉桂酸		蛇床子素	
	含量 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD /%	含量 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD /%	含量 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD /%
PH0108	0.199 1	3.8	0.043 6	3.80	0.289 3	3.2
PF0907	0.199 7	3.1	0.044 4	1.66	0.284 7	2.3
PI0206	0.199 3	2.9	0.044 0	2.23	0.271 3	0.21

采用回流提取法提取桂皮醛和肉桂酸明显优于超声提取法,特别是肉桂酸的提取率可提高 30%;以甲醇、乙醇为溶剂提取尪痹丸胶囊中独活的有效组分,发现含有大量的糖及脂类,且提取率较低,采用乙醚作为提取溶剂提取蛇床子素效果更佳。

采用流动相乙腈-水(用醋酸控制 pH 3.00),采用梯度洗脱可实现较好地分离桂皮醛、肉桂酸,可采用 268,290 nm 双波长检测;文献^[8-9]并不适用本品中蛇床子素的测定,实验确定了以甲醇-水(65:35)

椿皮三氯甲烷部位化学成分研究(I)

莫小宇¹, 麦景标^{2*}

(1. 中山市陈星海医院, 广东 中山 528415;
2. 广东三才石岐制药有限公司, 广东 中山 528415)

[摘要] 目的:进一步研究椿皮中三氯甲烷部位的化学成分。方法:采用硅胶柱色谱、HP-20 和 Sephadex LH-20 等分离手段对三氯甲烷萃取部分进行分离纯化, 通过波谱数据分析(¹H-NMR, ¹³C-NMR)进行结构鉴定。结果:从三氯甲烷萃取部分分离6个化合物。分别鉴定为白桦酸(1), α-香树脂醇(2), 6α-Hydroxylup-20(29)-en-3-on-28-oic acid(3), 2α,3β-dihydroxyurs-12-en-28-oic acid(4), β-谷甾醇(5), 熊果酸(6)。结论:化合物1,2,3,4,6为首次从该植物中分离得到。

[关键词] 苦木科; 椿皮; 三氯甲烷部位; 化学成分

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)21-0103-03

Studies on Chemical Constituents of Chloroform Portion of *Ailanthus altissima* (I)

MO Xiao-yu¹, MAI Jing-biao^{2*}

(1. Chenxinghai Hospital of Zhongshan, Zhongshan 528415, China;
2. Guangdong Sancai Shiqi Pharmaceutical Co., Ltd, Zhongshan 528415, China)

[Abstract] **Objective:** To study the chemical constituents of the chloroform portion of *Ailanthus altissima*. **Method:** The chloroform portion were isolated and purified by silica gel column chromatography, HP-20 and Sephadex LH-20. Their chemical structures were elucidated by spectral data (¹H-NMR, ¹³C-NMR). **Result:**

[收稿日期] 20120514(010)

[第一作者] 莫小宇, 妇产科医师, 从事女性生殖器官肿瘤的中医药防治研究

[通讯作者] * 麦景标, 药师, 从事有效成分筛选的研究, E-mail: maijingbiao168@163.com

为流动相, 色谱峰型好, 分离效果较好, 符合含量测定的要求。

[参考文献]

- [1] Liang Xin-miao, Jin Yu, Wang Yan-ping, et al. Qualitative and quantitative analysis in quality control of traditional Chinese medicines[J]. Chromatography A, 2009, 1216(11): 2033.
- [2] Yong Jiang, Bruno David, Pengfei Tu, et al. Recent analytical approaches in quality control of traditional Chinese medicines A review [J]. Analytica Chimica Acta, 2010, 657(1): 9.
- [3] Li S. P., Zhao J., Yang B. Strategies for quality control of Chinese medicines [J]. J Pharm Biomed Anal, 2011, 55(4): 802.
- [4] 中国药典. 一部[S]. 2010: VIB.

- [5] 姜超, 孟宪生, 包永睿, 等. 基于药效物质基础的肉桂和赤石脂相畏研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12): 99.
- [6] 王连芝, 蒋维谦. HPLC法测定桂枝中桂皮醛和肉桂酸的含量[J]. 中医药信息杂志, 2009, 26(4): 19.
- [7] 马蓉蓉, 唐意红, 孙兆林, 等. RP-HPLC测定不同产地肉桂中桂皮醛和肉桂酸的含量[J]. 中国现代中药, 2008, 10(4): 9.
- [8] 刘光斌, 毛和平, 姜芳宁, 等. HPLC同时测定和胃散中橙皮苷和桂皮醛的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(14): 87.
- [9] 郑小平, 孙小容. HPLC法测定独活寄生颗粒中蛇床子素[J]. 中草药, 2005, 36(6): 859.
- [10] 仇雅静, 陈晓鹏. HPLC法测定康乐洗液中蛇床子素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(11): 19.

[责任编辑 顾雪竹]