

· 论著 ·

胃纳欣颗粒的质量标准研究

赵昕¹, 王沈歌², 许志军³, 陈明明¹ (1. 沈阳军区联勤部药品仪器检验所, 辽宁 沈阳, 110026; 2. 沈阳军区总医院, 辽宁 沈阳, 110016; 3. 吉林大学公共计算机教学与研究中心, 吉林 长春, 130062)

[摘要] 目的 制定胃纳欣颗粒质量控制标准。方法 采用薄层色谱(TLC)法对胃纳欣颗粒中半夏、茯苓、甘草、枳壳、白芷进行定性鉴别;采用反相高效液相色谱(HPLC)法对柚皮苷进行定量测定。结果 半夏、茯苓、甘草、枳壳、白芷可用 TLC 法进行定性鉴别;HPLC 法测定柚皮苷可达基线分离,紫外检测器在 0.084 4~0.295 4 μg 时线性良好,回归方程: $Y=2 \times 10^6 X+14 691$, $r=0.999 3$, 6 次测定平均加样回收率为 98.74%, RSD 为 1.20%。结论 该法可准确定性、定量,能有效控制该制剂的质量。

[关键词] 胃纳欣颗粒;薄层色谱法;高效液相色谱法;柚皮苷

[中图分类号] R93 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2016)02-0167-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.02.017

Study on quality standard of Weinaxin granular

ZHAO Xin¹, WANG Shenge², Xu Zhijun³, CHEN Mingming¹ (1. Institute for Drug and Instrument Control of Shenyang Military Region, Shenyang 110026, China; 2. General Hospital of Shenyang Military Region, Shenyang 110016; 3. Public Computer Teaching and Research Center, Jilin University, Changchun 130062, China)

[Abstract] **Objective** To establish a quality standard of Weinaxin granular. **Methods** Pinelliae Rhizoma, Poria, Glycyrrhizae, Radix Angelicae, Aurantii Fructus were identified by TLC, and the assay of Narigin in Aurantii Fructus was performed by reverse phase HPLC. **Results** Pinelliae Rhizoma, Poria, Glycyrrhizae, Radix Angelicae, Aurantii Fructus can be identified by TLC. The HPLC method for Narigin shows a baseline separation with a linear calibration curve in the range of 0.084 4~0.295 4 μg ($r=0.999 3$). The average recovery of the method was 98.74%. The RSD was 1.20% ($n=6$). **Conclusion** This method was reliable and accurate, can be used for the quality control of this product.

[Key words] Weinaxin granular; TLC; HPLC; Narigin

胃纳欣颗粒是由半夏、砂仁、枳壳、甘草、乌梅、木香、白芷、党参、山药、茯苓、石膏等十一味药材组成的复方制剂,具有健脾和胃、降逆止呕、行滞消胀之功效。本制剂用于治疗胃呆纳少、胃脘痛胀、慢性胃炎、消化不良等症,疗效满意。处方中枳实药材所含主要成分为柚皮苷,柚皮苷的含量测定方法,文献有紫外分光光度法^[1]、高效液相色谱(HPLC)法^[2,3]等。为控制胃纳欣颗粒制剂的质量,本实验采用薄层色谱(TLC)法对方中半夏、茯苓、甘草、枳壳、白芷等五味药材进行定性鉴别;采用检测灵敏度高、准确度及精密度好的 HPLC 法对方中的柚皮苷进行含量测定,以期建立胃纳欣颗粒的质量标准。

1 材料与仪器

1.1 药品与试剂 胃纳欣颗粒(由吉林省军区门诊部提供,批号:20140512、20141015、20141016、20141017)。对照药材:半夏(批号:121272-201103)、柚皮苷(批号:110722-201312)、茯苓(批号:121117-201308)、甘草(批号:120904-201308)、白芷(批号:120945-201309)、枳壳(批号:120981-201104),均购自中国食品药品检定研究院。乙腈为色谱纯(美国 Tedia 公司);甲苯、乙酸乙酯、甲酸、磷酸、冰醋酸、甲醇、石油醚等其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器 岛津 LC-2010AHT 高效液相色谱仪紫外检测器(日本岛津),电子天平 AG204(梅特勒托利多公司),KQ-3200E 数控超声波处理器(昆山市超声仪器有限公司)。

2 方法与结果

2.1 药材的定性鉴别

[作者简介] 赵昕,硕士,副主任药师。研究方向:药物分析。Tel: (024)28869563;E-mail: xintongzhao1971@sina.com

[通讯作者] 陈明明,本科,副主任药师。研究方向:药物分析。E-mail: XZW194578@sina.com

2.1.1 半夏 溶液的制备:①对照药材溶液:取半夏对照药材 1 g,加 95% 乙醇 20 ml,超声处理 20 min,滤过,蒸干滤液,残渣加乙酸乙酯 1 ml 溶解,制成对照药材溶液。②阴性对照液:按上述方法制备去除半夏的阴性溶液。③样品溶液:取本品 5 g(批号:20141015、20141016、20141017),加 95% 乙醇 20 ml,超声 20 min,将过滤后的溶液加热,至挥发剩余约 2 ml,得到样品溶液。

TLC 鉴别:吸取样品溶液、对照药材液、阴性溶液各 10 μ l,点于硅胶 G 薄层板,展开剂为正丁醇-冰醋酸-水(8:3:1),展开、晾干后,用茚三酮试液作为显色剂,105 $^{\circ}$ C下加热约 5 min。样品溶液色谱与对照药材溶液显相同颜色的斑点,分离效果好,阴性液对照无干扰,证明此方法具专属性与可行性(图 1)。

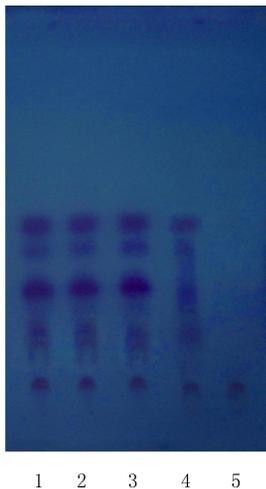


图 1 半夏鉴别 TLC 图

1~3. 样品溶液;4. 对照药材溶液;5. 阴性对照液

2.1.2 茯苓 溶液的制备:①对照药材溶液:取茯苓对照药材 1 g,加乙酸乙酯 20 ml,超声 10 min,蒸干过滤后的滤液,加乙酸乙酯 1 ml 溶解,制成对照药材液。②阴性对照液:按上述方法制备去除茯苓的阴性液。③样品溶液:取本品 10 g(批号:20141015、20141016、20141017),研细,加乙酸乙酯 50 ml,超声处理 20 min,蒸干过滤后的滤液,加乙酸乙酯 1 ml 使其溶解,即得。

TLC 鉴别:取上述溶液各 10 μ l,点于硅胶 G 板上,展开剂为甲苯-乙酸乙酯-甲酸(20:5:0.5),置于波长为 365 nm 紫外灯下检视,样品溶液色谱与对照药材液色谱显相同荧光斑点,且位置、颜色相同。阴性液对照无干扰,证明此方法具专属性与可行性(图 2)。

2.1.3 甘草 溶液的制备:①对照药材溶液:取甘

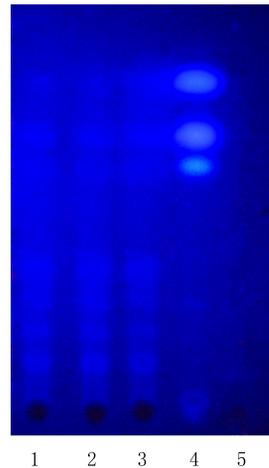


图 2 茯苓鉴别 TLC 图

1~3. 样品溶液;4. 对照药材溶液;5. 阴性对照液

草对照药材 1 g,加 20 ml 甲醇,超声 20 min,滤液热蒸至约 2 ml,制成对照液。②阴性对照液:按上述方法制备去除甘草的阴性液。③样品溶液:取本品 10 g(批号:20141015、20141016、20141017),研细,加甲醇 50 ml,超声 20 min,将滤液挥发至约 2 ml,即得。

TLC 鉴别:吸取上述溶液各 10 μ l,点于硅胶 G 板上,展开剂为乙酸乙酯-甲酸-冰醋酸-水(15:1:1:2),展开,晾干,用硫酸乙醇溶液(1:9)作为显色剂,于 105 $^{\circ}$ C加热约 5 min,斑点即显色清晰,样品溶液色谱与对照药材液色谱显相同斑点,且位置、颜色相同。分离效果好,阴性液对照无干扰,证明此方法具专属性与可行性(图 3)。

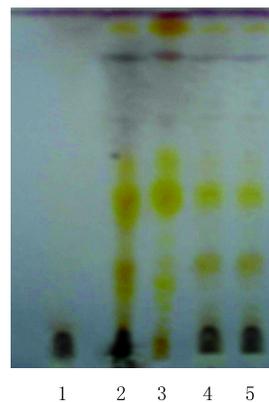


图 3 甘草鉴别 TLC 图

1~3. 样品溶液;4. 对照药材溶液;5. 阴性对照液

2.1.4 白芷 溶液的制备:①对照药材溶液:取白芷对照药材 0.5 g,按甘草对照药材液的制备方法操作,即得白芷对照药材液。②阴性对照液:按上述方法制备去除白芷的阴性液。③样品溶液:取本品 10 g(批号:20141015、20141016、20141017),研细,

加95%乙醇50 ml,超声处理20 min,过滤后,将滤液挥发至约2 ml,即得。

TLC鉴别:吸取上述溶液(各10 μ l)点于硅胶G板上,以石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)-乙酸乙酯(5:5)为展开剂,样品溶液色谱与对照药材液色谱在365 nm紫外灯下显相同荧光斑点,且位置、颜色相同。阴性液对照无干扰,证明此方法具专属性与可行性(图4)。



图4 白芷鉴别 TLC图
1~3.样品溶液;4.对照药材溶液;5.阴性对照液

2.1.5 枳壳 溶液的制备:①对照药材溶液:取柚皮苷对照品,加乙醇制成每1 ml含0.5 mg,作为对照品溶液;另取枳壳对照药材1 g,加95%乙醇50 ml超声20 min,滤过,滤液浓缩至2 ml,作为对照药材溶液。②阴性对照液:按上述方法制备去除枳壳的阴性液。③样品溶液:取本品10 g(批号:20141015、20141016、20141017),研细,加乙醇50 ml,超声20 min,过滤,滤液挥发至约2 ml,即得。

TLC鉴别:在硅胶G薄层板上分别点上述溶液各10 μ l,展开剂为二氯甲烷-甲醇-水(13:6:2)下层液,显色剂为3%三氯化铝乙醇溶液,于105 $^{\circ}$ C加热约5 min,置365 nm紫外灯下检视,样品溶液色谱与对照药材溶液色谱显相同荧光斑点,且位置、颜色相同。分离效果好,阴性液对照无干扰,证明此方法具专属性与可行性(图5)。

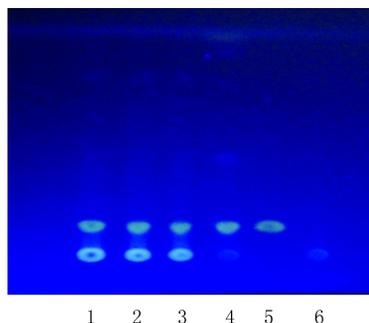


图5 枳壳鉴别 TLC图
1~3.样品溶液;4.对照药材溶液;5.对照品溶液;6.阴性对照液

2.2 枳壳中柚皮苷的含量测定

2.2.1 色谱条件及溶液制备 色谱条件:色谱柱:Agilent TC-C₁₈柱(4.6 mm \times 250 mm,5 μ m);检测波长:283 nm;流动相:乙腈-0.1%磷酸(20:80);流速:1.0 ml/min;柱温:40 $^{\circ}$ C。进样量:10 μ l。

溶液的制备:①对照品溶液:精密称取柚皮苷对照品10 mg,用乙醇分2步稀释500倍,即得。②样品溶液:精密称取本品3 g,置100 ml量瓶中,精密加入乙醇50 ml,称定重量。50 $^{\circ}$ C加热20 min,放冷,加入乙醇至原重量,摇匀,滤过,即得。③阴性对照溶液:按样品溶液制备方法制备去除枳壳的阴性溶液。

2.2.2 方法学考察 专属性:在“2.2.1”色谱条件下,柚皮苷与其他成分分离良好(分离度 $>$ 1.5)。保留时间约为13 min,且阴性对照溶液与柚皮苷对照品相同保留时间处,未显示明显色谱峰,认为无干扰(图6)。

稳定性试验:将样品溶液(批号:20140512)置室温下储存,分别于0、0.5、1、2、3、5 h,定期测定含量。6次含量的RSD为0.48%。

精密度试验:取胃纳欣颗粒(批号:20140512),按样品溶液制备方法制成溶液,重复进样6次,计算柚皮苷峰面积的RSD为0.05%,精密度试验符合要求。

重复性试验:取胃纳欣颗粒(批号:20140512)适量,按“2.2.1”项制备样品溶液6份,并按色谱条件测定,平均含量为0.395 1 mg/g,RSD=1.65%($n=6$),表明方法重复性良好。

线性关系考察:精密称取对照品适量,加95%乙醇制成每1 ml含0.021 1 mg的溶液,分别精密吸取对照品溶液4、6、8、10、12、14 μ l,测定,得线性方程 $Y=2\times 10^6 X+14\ 691$, $r=0.999\ 3$,结果表明,柚皮苷线性范围为0.084 4~0.295 4 μ g。

加样回收率试验:取6份胃纳欣颗粒(批号:20140512,含量为0.395 1 mg/g)3.0 g,精密称定,分别加入100 ml容量瓶中,再分别精密加入4 ml柚皮苷对照品溶液(0.214 mg/ml),加入95%乙醇稀释至刻度。按“2.2.1”项下样品溶液制备方法制成加样样品溶液,测定柚皮苷的含量。测得平均回收率为98.74%,RSD=1.20%,表明加样回收率试验结果符合要求,结果见表1。

2.3 样品测定 取胃纳欣颗粒(批号:20141015、20141016、20141017)3 g,研细,混匀,精密称定,置100 ml的量瓶中,加入精密量取95%乙醇50 ml,密闭,称量。超声(250 W,50 kHz)20 min,放冷,称

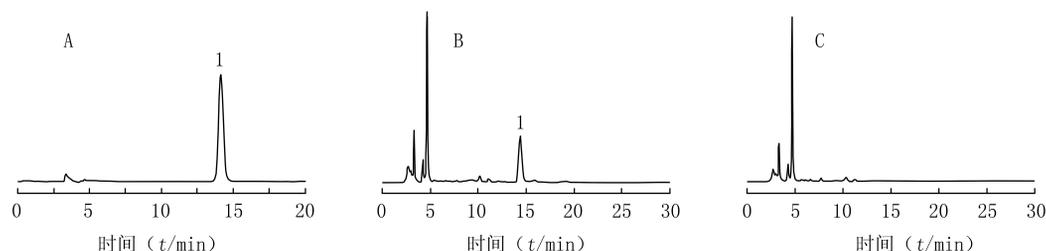


图6 胃纳欣颗粒的HPLC图

A. 柚皮苷对照品; B. 样品溶液; C. 阴性对照液; 1. 柚皮苷

表1 加样回收率试验

No.	取样量 (m/g)	样品中 含柚皮 苷的量 (m/mg)	对照品 加入量 (m/mg)	实测值 (m/mg)	回收率 (%)	平均回 收率 (%)	RSD (%)
1	2.944 7	1.163 5	0.857 6	2.008 1	98.49		
2	3.029 7	1.197 1	0.857 6	2.040 6	98.36		
3	3.017 9	1.192 4	0.857 6	2.039 0	98.72	98.74	1.20
4	2.769 2	1.094 1	0.857 6	1.926 7	97.09		
5	3.019 7	1.193 1	0.857 6	2.042 8	99.08		
6	3.198 0	1.263 5	0.857 6	2.127 4	100.73		

表2 胃纳欣颗粒样品含量测定结果($\bar{x} \pm s, n=2$)

批号	柚皮苷的含量(mg/g)
20141015	0.356 3
20141016	0.225 6
20141017	0.219 1

重,加入95%乙醇至原有的重量,摇匀,滤过,即得样品溶液。分别吸取对照品溶液与上述溶液各10 μl,测定峰面积,以外标法计算,即得^[3],结果见表2。本品每1g含枳实以柚皮苷计(C₁₆H₁₈O₉),不得少于0.18mg。

3 讨论

3.1 实验方法的选择 采用TLC鉴别白芷的过程中,曾尝试以《中华人民共和国药典》(2010年版)所列方法^[4],以石油醚(30~60℃)-乙醚(3:2)为展开剂,但分离效果不佳。后取3批样品进行实验,经考察,选定石油醚(60~90℃)-乙酸乙酯(5:5)为展开剂,其结果斑点显示清晰、重现性好、稳定性高,阴性液对照无干扰。

3.2 提取溶剂的选择 测定样品中柚皮苷含量时,用甲醇、95%乙醇为提取溶剂,分别超声提取20、40min,制备样品溶液,进样,结果表明,两者提取率基本无差别。考虑毒性及时间因素,选取95%乙醇超声提取20min作为样品溶液的制备方法。

3.3 HPLC测定条件的确定 参考文献[2-4]条件,通过实验对其加以改进,使柚皮苷达到基线分离,且阴性液对照无干扰。

【参考文献】

[1] 李雪婷,王沛,崔晓立.紫外分光光度法测定痛风宁微丸中柚皮苷的含量[J].中国卫生工程学,2011,3:38-39.
 [2] 李慧.高效液相色谱法测定橘红痰咳液中柚皮苷的含量[J].药品检验,2012,9(5):110-111.
 [3] 邓秋丽,徐文升,李胜.RP-HPLC法测定祛痰散胶囊中柚皮苷的含量[J].中国医药指南,2010,8(30):13-14.
 [4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典2010年版一部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:542-543.

[收稿日期] 2014-12-17 [修回日期] 2015-08-31

[本文编辑] 李睿旻

(上接第147页)

[2] Toso C, Merani S, Bigam DL, et al. Sirolimus-based immunosuppression is associated with increased survival after liver transplantation for hepatocellular carcinoma [J]. Hepatology, 2010, 51(4):1237-1243.
 [3] Chatel MA, Larkin DF. Sirolimus and mycophenolate as combination prophylaxis in corneal transplant recipients at high rejection risk [J]. Am J Ophthalmol, 2010, 150(2):179-184.
 [4] Chen Y, Li G, Wu X, et al. Self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS) of vinpocetine: formulation development and in vivo assessment [J]. Biol Pharm Bull, 2008, 31(1):118-125.

[5] Patel AR, Vavia PR. Preparation and in vivo evaluation of SMEDDS (self-microemulsifying drug delivery system) containing fenofibrate [J]. AAPS J, 2007, 9(3):344-352.
 [6] Woo JS, Song YK, Hong JY, et al. Reduced food-effect and enhanced bioavailability of a self-microemulsifying formulation of itraconazole in healthy volunteers [J]. Eur J Pharm Sci, 2008, 33(2):159-165.
 [7] 温许,黄爱文,张敏新,等.西罗莫司固体自微乳口服缓释微丸的制备与体外释药考察[J].中国医院药学杂志,2014,34(23):1998-2003

[收稿日期] 2016-01-01 [修回日期] 2016-01-31

[本文编辑] 李睿旻