

儿脾醒颗粒的质量标准研究

黄惠琼 李玲玲

(厦门市食品药品质量检验研究院,福建 厦门 361012)

【摘要】 目的:制定儿脾醒颗粒的简便快捷的质量标准。方法:采用薄层色谱法,鉴别儿脾醒颗粒中山楂、陈皮及薏苡仁;采用高效液相色谱法,建立制剂中陈皮中橙皮苷及山楂中熊果酸的含量测定方法。结果:橙皮苷在 $4.068 \sim 101.7 \mu\text{g/mL}$ 范围内,具有良好的线性关系, $Y = 189\ 654X - 8\ 534.3 (r = 1)$, 加样回收率为 100.3%, RSD 为 1.4% ($n = 9$);熊果酸在 $0.027\ 94 \sim 0.465\ 6 \text{ mg/mL}$ 范围内,具有良好的线性关系, $Y = 6 \times 10^6 X - 16\ 868 (r = 0.999\ 8)$, 加样回收率为 98.4%, RSD 为 2.4% ($n = 9$)。结论:本法准确可靠,适用于儿脾醒颗粒的质量控制。

【关键词】 儿脾醒颗粒;质量标准;薄层色谱;高效液相色谱

doi:10.3969/j.issn.1672-5433.2016.12.005

Study on Quality Standards for Erpixin Granules

Huang Huiqiong, Li Lingling (Xiamen Institute for Food and Drug Quality Control, Fujian Xiamen 361012, China)

ABSTRACT Objective: To establish a quality standard for erpixin granules. **Methods:** The crataegi fructus, citri reticulatae pericarpium and coicis semen in erpixin granules were identified by thin layer chromatography (TLC), while the content of hesperidin and malol in erpixin granules were determined by high performance liquid chromatography (HPLC). **Results:** The linear range of hesperidin was $4.068 \sim 101.7 \mu\text{g/mL}$ ($Y = 189\ 654X - 8\ 534.3, r = 1$). The average recovery was 100.3%, with a RSD of 1.4% ($n = 9$). However, the linear range of malol was $0.027\ 94 \sim 0.465\ 6 \text{ mg/mL}$ ($Y = 6 \times 10^6 X - 16\ 868, r = 0.999\ 8$). The average recovery was 98.4%, with a RSD of 2.4% ($n = 9$). **Conclusion:** This method is accurate and reliable, which is suitable for the quality control of erpixin granules.

KEY WORDS Erpixin Granules; Quality Standard; Thin Layer Chromatography (TLC); High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

“儿脾醒颗粒”为山楂、麦芽、鸡内金、山药、薏苡仁、白扁豆、陈皮和茯苓八味药材制成的颗粒剂。具有健脾和胃,消食化积之功效。原质量标准收载于局颁试行标准,标准号为 WS-10441 (ZD-0441)-2002。原标准项目简单,仅设立山楂和陈皮薄层色谱鉴别,测定正丁醇提取物,用薄层扫描法测定山楂中熊果酸的含量,方法繁复,且重现性差,难以全面控制药品质量。本文对儿脾醒颗粒

进行全面研究,修订质量标准,重新建立山楂、陈皮、薏苡仁的薄层色谱鉴别;建立高效液相色谱法测定山楂中熊果酸的含量以及陈皮中橙皮苷的含量,方法简便快捷,能很好地控制制剂质量。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters e2695 高效液相色谱仪,岛津 LC-20A 高效液相色谱仪,Agilent1200 高效液相色谱仪,

作者简介:黄惠琼,女,硕士,副主任药师。研究方向:药品质量分析。通讯作者 E-mail: xmyjhhq@163.com

Mettler105XS 电子天平。

1.2 试药

橙皮苷对照品、熊果酸对照品、山楂对照药材、陈皮对照药材、薏苡仁对照药材,均来源于中国食品药品检定研究院。

1.3 儿脾醒颗粒样品

儿脾醒颗粒样品由贵州某公司生产,规格为 2.5 g/袋,批号为:20100901,20101101,20101201,20101202,20110201,20110401,20110501,20110601,20110701,20110801。

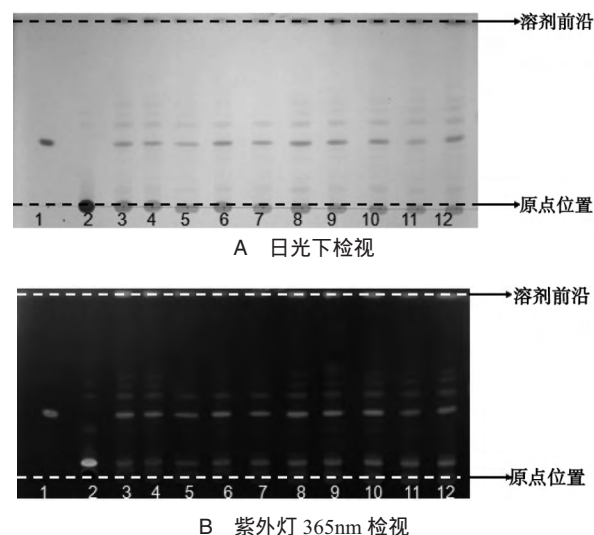
2 方法与结果

2.1 山楂薄层色谱鉴别

取本品 5 g,研细,加乙醚 25 mL,加热回流 1 小时,滤过,滤液挥干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取山楂对照药材 1 g,同法制成对照药材溶液。取熊果酸对照品,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〔《中国药典》(2010 年版)一部附录 B〕试验,吸取上述两种溶液各 10 μ L,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,以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(20:4:0.5)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以硫酸乙醇溶液(3 $\rightarrow$ 10),在 80 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰,置日光及紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点及荧光斑点。经过多次实验,色谱重复性好,阴性无干扰,斑点清晰,见图 1。

2.2 陈皮薄层色谱鉴别

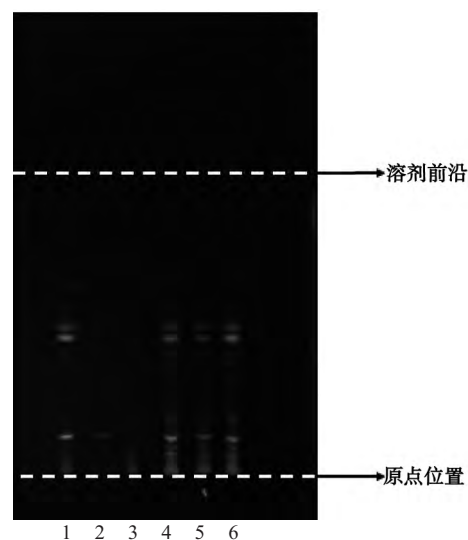
取本品 2 g,研细,加甲醇 30 mL,加热回流 1 小时,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 2 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取陈皮对照药材 0.5 g,同法制成对照药材溶液。再取橙皮苷对照品,加甲醇制成饱和溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法〔《中国药典》(2015 年版)四部 0502〕试验,吸取上述三种溶液各 2 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-甲醇-水(100:17:13)为展开剂,展至约 3 cm,取出,晾干,再以甲苯-乙酸乙酯-甲酸-水(20:10:1:1)的上层溶液为展开剂,展至约 8 cm,取出,晾干,喷以三氯化铝试液,置



1 熊果酸对照品 2 阴性对照 3 供试品(批号 20100901) 4 供试品(批号 20101101) 5 供试品(批号 20101201) 6 山楂对照药材 7 供试品(批号 20110201) 8 供试品(批号 20110401) 9 供试品(批号 20110501) 10 供试品(批号 20110601) 11 供试品(批号 20110701) 12 供试品(批号 20110801)

图 1 山楂薄层色谱图

紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材和对照品相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。经过多次实验,色谱重复性好,阴性无干扰,斑点清晰,见图 2。

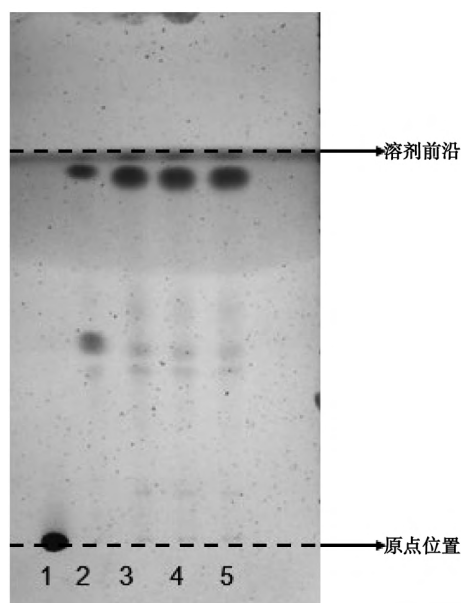


1 陈皮对照药材 2 橙皮苷对照品 3 阴性对照 4 供试品(批号 20110701) 5 供试品(批号 20110801) 6 供试品(批号 20110601)

图 2 陈皮薄层色谱图

2.3 薏苡仁薄层色谱鉴别

取本品 5 g, 研细, 加石油醚(60~90 °C) 60 mL, 超声处理 30 分钟, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加石油醚(60~90 °C) 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取薏苡仁对照药材 1 g, 同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法〔《中国药典》(2015 年版) 四部 0502〕试验, 吸取上述两种溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚(60~90 °C)-乙酸乙酯-醋酸(10:3:0.1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 2% 香草醛硫酸溶液, 在 105 °C 加热至斑点显色清晰, 置日光下检视。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。经多次实验, 色谱重复性好, 阴性无干扰, 斑点清晰, 见图 3。



1 阴性对照 2 薏苡仁对照药材 3 供试品(批号 20110701) 4 供试品(批号 20110801) 5 供试品(批号 20110601)

图 3 薏苡仁薄层色谱图

2.4 橙皮苷含量测定

2.4.1 色谱条件 色谱柱: Thermo Hypersil BDS C_{18} (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μ m); 岛津 ODS-SP C_{18} (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μ m); Agilent extend C_{18} (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-6% 醋

酸溶液(30:70); 检测波长: 284 nm; 进样量: 10 μ L。

2.4.2 溶液的制备

2.4.2.1 供试品溶液的制备 取装量差异项下的本品适量, 研细, 取约 2.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理(功率 300 W, 频率 50 kHz) 30 分钟, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.4.2.2 对照品溶液的制备 取橙皮苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 含 30 μ g 的溶液, 即得。

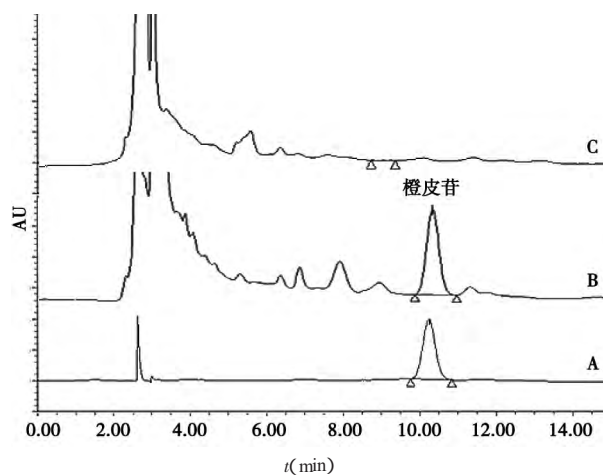
2.4.2.3 阴性对照溶液的制备 按照处方同法制备缺陈皮药材的阴性对照溶液。

2.4.3 线性考察 精密称取橙皮苷对照品适量, 加甲醇制成 0.203 4 mg/mL 的溶液, 作为储备液。分别稀释成不同浓度的对照品溶液, 按方法测定。以浓度(μ g/mL)为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 进行线性回归, 得标准曲线:

$$Y = 18\,965X - 8\,534.3,$$

$r = 1$, 表明在 4.068 ~ 101.7 μ g/mL 范围内, 具有良好的线性关系。

2.4.4 专属性 分别取阴性对照溶液、供试品溶液以及对照品溶液, 按方法试验, 结果阴性对照溶液在橙皮苷峰处无干扰, 结果表明方法专属性良好, 见图 4。



A 橙皮苷对照品 B 供试品溶液 C 阴性对照溶液

图 4 橙皮苷液相色谱图

2.4.5 重复性及范围 取样品 9 份,按方法测定。结果橙皮苷平均含量为 0.344 mg/g,RSD 为 1.3%,结果表明方法重复性良好,且在取样量的 50% ~ 150%范围内均适用。

2.4.6 准确度 精密称取已知含量的儿脾醒颗粒 9 份,各 1.2 g,按样品中橙皮苷含量的 0.5 : 1,1 : 1,1.5 : 1 的比例分别精密加入橙皮苷对照品溶液 (0.206 2 mg/mL) 1,2,3 mL 各 3 份,按方法测定,结果平均回收率为 100.3%,RSD 为 1.4%,表明方法准确度良好,见表 1。

2.4.7 精密度 按正文方法,取同一橙皮苷对照品溶液连续进样 6 次,记录峰面积,计算峰面积 RSD 为 1.2%,结果表明方法精密度良好。

2.4.8 稳定性 取同一份供试品溶液 (批号: 20110701),间隔一定时间分别进样,记录峰面积,结果 RSD 为 0.5%,表明供试品溶液在 36 小时内稳定。

2.4.9 耐用性 采用三台不同品牌的高效液相色谱仪,三根不同的色谱柱测定同一批样品,结果见表 2,表明方法耐用性良好。

表 1 橙皮苷回收率试验结果

序号	取样量 (g)	原含量 (mg)	加入量 (mg)	实测量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	1.172 0	0.403 2	0.206 2	0.606 7	98.72	100.3	1.4
2	1.296 2	0.445 9	0.206 2	0.650 2	99.10		
3	1.195 3	0.411 2	0.206 2	0.617 6	100.11		
4	1.178 2	0.405 3	0.412 4	0.815 3	99.43		
5	1.214 8	0.417 9	0.412 4	0.837 2	101.68		
6	1.178 7	0.405 5	0.412 4	0.831 2	103.23		
7	1.198 4	0.411 2	0.618 6	1.028 6	99.64		
8	1.224 2	0.421 1	0.618 6	1.038 2	99.75		
9	1.190 6	0.409 6	0.618 6	1.033 2	100.81		

表 2 耐用性试验结果

仪器名称	色谱柱型号	流动相比例	含量 (mg/g)	理论板数	RSD (%)
岛津 LC-20A	Agilent extend C ₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)	甲醇-6%醋酸 (66 : 34)	0.36	4 427	3.3
Agilent 1200	岛津 ODS-SP C ₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)	甲醇-6%醋酸 (68 : 32)	0.36	6 580	
Waterse 2695	Thermo Hypersil BDS C ₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)	甲醇-6%醋酸 (70 : 30)	0.34	4 684	

2.4.10 样品测定 按正文方法对 10 批儿脾醒颗粒进行含量测定,本品含橙皮苷在 0.31 ~ 0.34 mg/g 之间,含量较均一,结果见表 3。

2.5 熊果酸含量测定

2.5.1 色谱条件 色谱柱: Thermo Hypersil BDS C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 岛津 ODS-SP C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); Agilent extend C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.1% 磷酸溶液 (80 : 20); 检测波长: 215 nm; 进样量: 20 μL。

表 3 样品含量测定结果

序号	批号	含量 (mg/g)
1	20100901	0.32
2	20101101	0.31
3	20101201	0.32
4	20101202	0.33
5	20110201	0.34
6	20110401	0.33
7	20110501	0.33
8	20110601	0.33
9	20110701	0.34
10	20110801	0.34

2.5.2 溶液的制备

2.5.2.1 供试品溶液的制备 取本品约 5 g, 精密称定, 研细, 加乙醇 100 mL 加热回流提取 1 h, 过滤, 用适量乙醇分数次洗涤容器和滤渣, 合并滤液, 蒸干, 用甲醇溶解转移至 10 mL 量瓶中, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.5.2.2 对照品溶液的制备 取经五氧化二磷减压干燥 12 小时以上的熊果酸对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 含 70 μ g 的溶液, 即得。

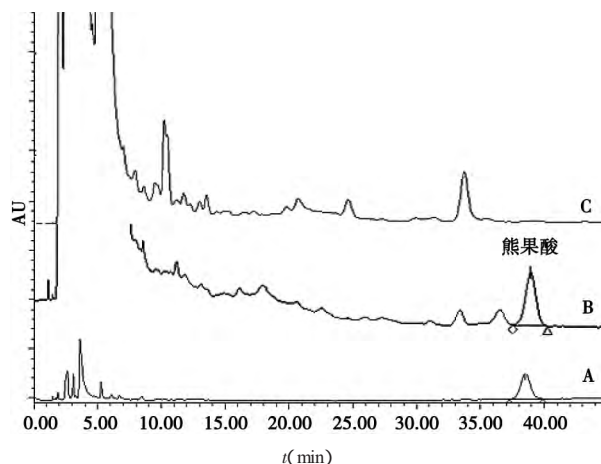
2.5.2.3 阴性对照溶液的制备 按照处方同法制备缺山楂药材的阴性对照溶液。

2.5.3 线性考察 精密称取熊果酸对照品适量, 加甲醇制成 0.465 6 mg/mL 的溶液, 作为储备液。分别稀释成不同浓度的对照品溶液, 按方法测定。以浓度(mg/mL)为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 进行线性回归, 得标准曲线:

$$Y = 6 \times 10^6 X - 16\,868,$$

$r = 0.999\,8$, 结果表明在 0.027 94 ~ 0.465 6 mg/mL 范围内, 具有良好的线性关系。

2.5.4 专属性 分别取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液按正文方法实验, 结果阴性对照溶液在熊果酸峰处无干扰, 表明专属性良好, 见图 5。



A 熊果酸对照品 B 供试品 C 阴性对照

图 5 熊果酸液相色谱图

2.5.5 重复性及范围 取样品 9 份, 按正文方法测定。结果熊果酸平均含量为 0.134 mg/g, RSD 为 1.3%, 结果表明方法重复性良好, 且在取样量的 50% ~ 150% 范围内适用。

2.5.6 准确度 精密称取已知含量的儿脾醒颗粒 9 份, 各 2.5 g, 按样品中熊果酸含量的 0.5 : 1, 1 : 1, 1.5 : 1 的比例分别精密加入熊果酸对照品溶液 (0.193 9 mg/mL) 1, 2, 3 mL 各 3 份, 按正文方法测定, 结果平均回收率为 98.4%, RSD 为 2.4%, 表明方法准确度良好, 见表 4。

表 4 熊果酸回收率试验结果

序号	取样量(g)	原含量(mg)	加入量(mg)	实测量(mg)	回收率(%)	平均值(%)	RSD(%)
1	2.550 8	0.341 8	0.193 9	0.525 4	94.68	98.4	2.4
2	2.617 3	0.350 7	0.193 9	0.541 8	98.56		
3	2.724 9	0.365 1	0.193 9	0.555 5	98.16		
4	2.402 5	0.321 9	0.387 8	0.702 0	98.00		
5	2.564 3	0.343 6	0.387 8	0.714 2	95.56		
6	2.459 0	0.329 5	0.387 8	0.708 0	97.58		
7	2.635 1	0.353 1	0.581 8	0.937 3	100.42		
8	2.614 5	0.350 3	0.581 8	0.935 4	100.57		
9	2.777 4	0.372 2	0.581 8	0.964 2	101.76		

2.5.7 精密度 按正文方法, 取同一熊果酸对照品溶液连续进样 6 针, 记录峰面积, 计算峰面积的 RSD 为 1.0%, 结果表明仪器的进样精密度良好。

2.5.8 稳定性 取同一份供试品溶液 (批号:

20110701), 间隔一定时间分别进样, 记录峰面积, 结果 RSD 为 1.4%, 表明供试品溶液在 20 小时内稳定。

2.5.9 耐用性 采用两台不同品牌的高效液相色谱

谱仪及三根不同的色谱柱测定同一批样品,以 Thermo Hypersil BDS C₁₈ 柱分离效果最佳,结果见表 5,表明方法耐用性良好。

2.5.10 样品测定 按拟订方法对 10 批儿脾醒颗粒进行含量测定,本品含熊果酸在 0.12 ~ 0.15 mg/g 之间,含量较均一,结果见表 6。

表 5 熊果酸耐用性试验结果

仪器名称	色谱柱型号	流动相比比例	含量(mg/g)	理论板数	RSD(%)
Agilent 1200	Agilent extend C ₁₈ (4.6 mm × 250 mm 5 μm)	甲醇-0.1%磷酸(80:20)	0.13	13 295	4.6
Waters e2695	Thermo Synchronis aQ C ₁₈ (4.6 mm × 250 mm 5 μm)	甲醇-0.1%磷酸(83:17)	0.12	10 327	
Waters e2695	Thermo Hypersil BDS C ₁₈ (4.6 mm × 250 mm 5 μm)	甲醇-0.1%磷酸(80:20)	0.13	12 695	

表 6 样品熊果酸含量测定结果

序号	批号	含量(mg/g)
1	20100901	0.12
2	20101101	0.13
3	20101201	0.14
4	20101202	0.13
5	20110201	0.14
6	20110401	0.13
7	20110501	0.14
8	20110601	0.15
9	20110701	0.13
10	20110801	0.14

3 讨论

3.1 儿脾醒颗粒质量标准研究鲜见文献研究报道。现有标准方法繁复,且重现性差,难以全面控制药品质量。本文对儿脾醒颗粒进行全面研究,修订质量标准,重新建立山楂、陈皮、薏苡仁的薄层色谱鉴别;建立高效液相色谱法测定山楂中熊果酸的含量以及陈皮中橙皮苷的含量,方法简便快捷,能很好地控制制剂质量。

3.2 课题同时对儿脾醒颗粒中山药、茯苓、麦芽、白扁豆的薄层色谱鉴别进行研究。研究发现麦芽薄层色谱中阴性对照干扰严重;供试品未能检出

茯苓相应特征斑点;供试品色谱中山药特征斑点不明显,且样品取样量大,影响判定;白扁豆薄层色谱不理想,故未能建立山药、茯苓、麦芽及白扁豆的薄层色谱鉴别。

3.3 橙皮苷及熊果酸含量测定流动相的选择。橙皮苷高效液相色谱法测定中比较不同流动相系统,如甲醇-水,甲醇-6%冰醋酸溶液,结果显示后者的峰形理想。熊果酸高效液相色谱法测定中比较了不同流动相系统,如甲醇-0.2%磷酸,乙腈-0.3%磷酸,乙腈-甲醇-水(含 1 g/L 磷酸,2 mL/L 三乙胺,60:25:15),甲醇-0.05%醋酸,甲醇-0.2%磷酸二氢钠等流动相,结果显示流动相为甲醇-0.1%磷酸(80:20)的峰形理想。

3.4 根据十批儿脾醒颗粒橙皮苷及熊果酸的含量测定结果,橙皮苷及熊果酸的转移率仅约为 11% 和 25%,建议企业进一步优化工艺,考察产品质量。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(2015年版)一部[S].北京:中国医药科技出版社.
- [2] 刘玲,孙国兵,陈莉.测定儿脾醒颗粒中正丁醇提取物[J].中华中西医杂志,2006,7(16):1446-1447.

(收稿日期:2016-10-11)