

- [13] 刘红宁, 王玉蓉, 陈丽华, 等. 中药药剂学研究进展与发展趋势探讨 [J]. 世界中医药, 2015, 10 (3): 305-309, 314.
- [14] 杨燕, 田成旺. 现代中药发展的几个关键问题 [J]. 中草药, 2016, 47 (18): 3346-3350.

胃气痛片质量标准的研究

那微, 金星, 薛春梅, 李慧勇*

(黑龙江省食品药品检验检测所, 黑龙江哈尔滨 150088)

摘要: 目的 建立胃气痛片(乌药、青皮、白芍等)的质量标准。方法 TLC法定性鉴别青皮、乳香、白芍、木香、肉桂, HPLC法测定去甲异波尔定、芍药苷、橙皮苷含有量。结果 TLC斑点清晰, 分离度好, 阴性无干扰。去甲异波尔定、芍药苷、橙皮苷分别在4.746 7~118.668 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($r = 0.9998$)、19.207 8~192.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($r = 0.9998$)、10.51~105.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($r = 0.9999$)范围内线性关系良好, 平均加样回收率分别为93.72% ($\text{RSD} = 0.7\%$)、93.29% ($\text{RSD} = 0.8\%$)、96.22% ($\text{RSD} = 0.2\%$)。结论 该方法简便、准确、可靠, 可用于胃气痛片的质量控制。

关键词: 胃气痛片; 去甲异波尔定; 芍药苷; 橙皮苷; TLC; HPLC

中图分类号: R927.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2018)11-2455-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.11.019

Quality standard for Weiqitong Tablets

NA Wei, JIN Xing, XUE Chun-mei, LI Hui-yong*

(Heilongjiang Provincial Institute for Food and Drug Control, Harbin 150088, China)

ABSTRACT: AIM To establish the quality standard for Weiqitong Tablets (*Linderae Radix*, *Citri reticulatae Pericarpium Viride*, *Paeoniae Radix Alba*, etc.). **METHODS** TLC was used for the qualitative identification of *Citri reticulatae Pericarpium Viride*, *Olibanum*, *Paeoniae Radix Alba*, *Aucklandiae Radix* and *Cinnamomi Cortex*. HPLC was adopted in the content determination of norisoboldine, paeoniflorin, hesperidin. **RESULTS** The clear and well-separated TLC spots were free from negative interference. Norisoboldine, paeoniflorin and hesperidin showed good linear relationships within the ranges of 4.746 7~118.668 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($r = 0.9998$), 19.207 8~192.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($r = 0.9998$), 10.51~105.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($r = 0.9999$), whose average recoveries were 93.72% ($\text{RSD} = 0.7\%$), 93.29% ($\text{RSD} = 0.8\%$), 96.22% ($\text{RSD} = 0.2\%$), respectively. **CONCLUSION** This simple, accurate and reliable method can be used for the quality control of Weiqitong Tablets.

KEY WORDS: Weiqitong Tablets; norisoboldine; paeoniflorin; hesperidin; TLC; HPLC

胃气痛片由乌药、郁金、香附、青皮、乳香、没药、五灵脂、高良姜、八角茴香、白芍、木香、丁香、肉桂13味药材组成, 并有木香-乌药、丁香-郁金、乳香-没药等药对^[14], 功效理气、和胃、止痛, 对胃脘疼痛、胸腹胀满、呕吐酸水、消化不良

等症状有较好的疗效。目前, 胃气痛片执行质量标准收载于中华人民共和国卫生部药品标准(中药成方制剂第十三册), 编号为WS3-B-2561-97^[5], 但该标准构成简单, 缺少必要的定性鉴别、定量测定项目。因此, 本实验采用TLC法定性鉴别胃气

收稿日期: 2018-02-28

作者简介: 那微(1979—), 女, 硕士生, 副主任药师, 从事中药质量分析评价与质量标准建立研究。Tel: (0451) 53638792-2604, E-mail: naweicn@sina.cn

*通信作者: 李慧勇(1981—), 男, 硕士生, 副主任药师, 从事中药质量分析评价与质量标准建立研究。Tel: (0451) 53638792-2604, E-mail: 6010472@qq.com

痛片中青皮、乳香、白芍、木香、肉桂, HPLC 法测定乌药中去甲异波尔定^[6-10]、青皮中橙皮苷、白芍中芍药苷的含有量^[11], 以期为该制剂质量的全面控制提供依据。

1 材料

Waters e2695 高效液相色谱仪 (美国沃特世公司); Sartorius CP225D 电子分析天平 (德国赛多利斯公司); TW20 水浴锅 (德国 Julabo 公司); 超声波清洗仪 (上海科导超声仪器有限公司, 220 V、250 W)。

胃气痛片 (由生产企业 A 提供 5 批, 批号 150701、150702、150703、151006、151007, 每片 0.4 g)。去甲异波尔定 (111825-201402, 含有量 95.7%)、芍药苷 (110736-201438, 含有量 96.4%)、橙皮苷 (110721-201316, 含有量 95.3%)、桂皮醛 (110710-201418)、木香烃内酯 (111524-200905)、去氢木香内酯 (1525-200103) 对照品, 木香 (120921-201008)、青皮 (1155-200001)、乳香 (120970-201305) 对照药材均购自中国食品药品检定研究院。乙腈、甲醇为色谱纯 (美国 Honeywell 公司); 其他试剂均为分析纯 (国药集团化学试剂有限公司); 水为超纯水。薄层色谱鉴别用硅胶 G 预制板分别购自青岛海洋化工有限公司 (海洋牌)、烟台江友硅胶开发有限公司 (黄海牌)、烟台市化学工作研究院 (银龙牌); 硅胶 GF254 预制板分别购自青岛海洋化工有限公司 (海洋牌)、德国 MN 公司预制 TLC 铝箔薄层板、德国 MN 公司预制 TLC 玻璃高效薄层板。

2 方法与结果

2.1 TLC 定性鉴别

2.1.1 青皮

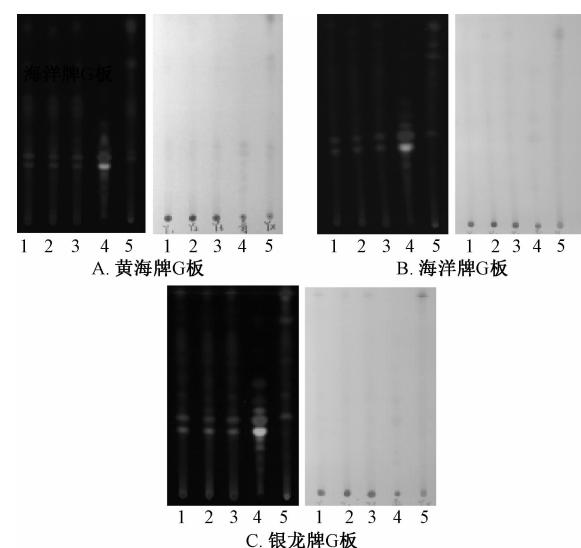
2.1.1.1 供试品溶液制备 取片剂 10 片, 研细, 加 30 mL 石油醚 (60~90 °C) 超声 15 min, 过滤, 滤液备用。药渣挥干溶剂后, 加 50 mL 甲醇加热回流 20 min, 过滤, 取滤液的 1/3 蒸干 (余下 2/3 备用), 残渣加 1 mL 甲醇溶解, 即得。

2.1.1.2 对照药材溶液制备 取青皮对照药材 1 g, 加 30 mL 甲醇超声 20 min, 过滤, 滤液蒸干, 残渣加 1 mL 甲醇溶解, 即得。

2.1.1.3 阴性对照溶液制备 取缺青皮药材, 按“2.2.1.2”项下方法制备, 即得。

2.1.1.4 鉴别方法 吸取供试品、对照药材、阴性对照溶液各 5~10 μL, 点于同一硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-乙酸乙酯-甲酸-水 (20:10:1:1) 上

层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 放置 10 min 后分别置于日光、紫外光灯 (波长 365 nm) 下观察, 结果见图 1。可知, 供试品色谱图在对照药材相应位置处显相同颜色斑点, 阴性无干扰。



注: 每张小图左边均于紫外光灯 (波长 365 nm) 下观察, 右边均于日光下观察

1. 样品 (151006) 2. 样品 (151007) 3. 样品 (150703)
4. 对照药材 5. 阴性对照
1. sample (151006) 2. sample (151007) 3. sample (150703) 4. reference medicinal material 5. negative control

图 1 青皮 TLC 色谱图

Fig. 1 TLC chromatograms of *Citri reticulatae Pericarpium Viride*

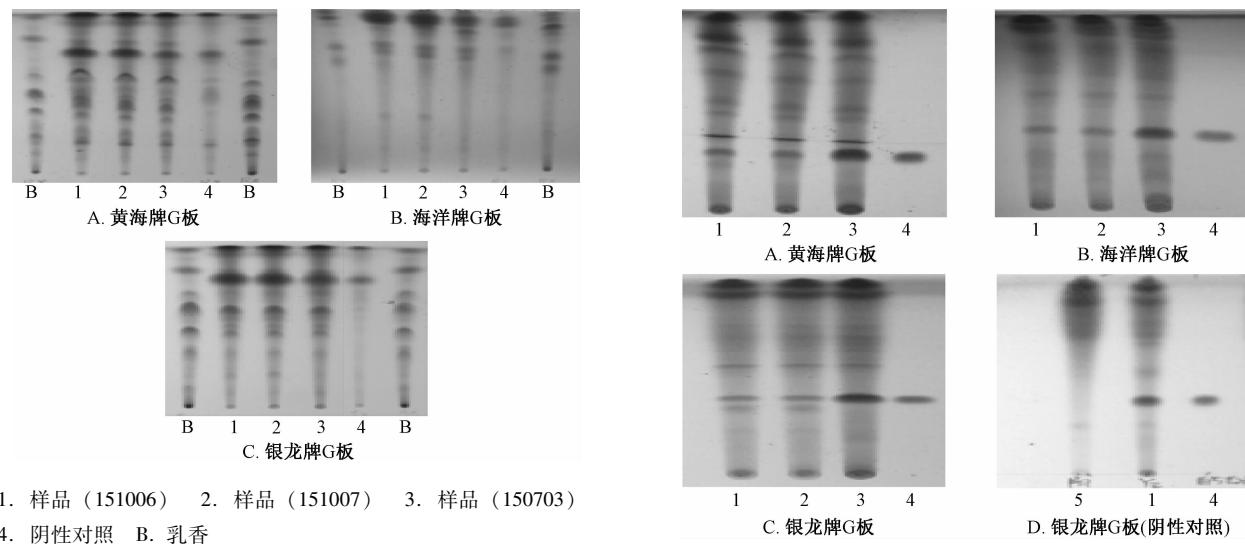
2.1.2 乳香

2.1.2.1 供试品溶液制备 取“2.1.1.1”项下石油醚 (60~90 °C) 滤液, 蒸干, 残渣加 2 mL 乙酸乙酯溶解, 即得。

2.1.2.2 对照药材溶液制备 取乳香对照药材 0.2 g, 加 10 mL 乙醚超声 5 min, 过滤, 滤液挥干, 残渣加 2 mL 乙酸乙酯溶解, 即得。

2.1.2.3 阴性对照溶液制备 取缺乳香药材, 按“2.1.2.2”项下方法制备, 即得。

2.1.2.4 鉴别方法 吸取供试品、对照药材、阴性对照溶液各 1~2 μL, 点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚 (60~90 °C) -乙酸乙酯-甲酸 (20:10:0.1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 香草醛硫酸溶液, 105 °C 下加热至斑点显色清晰, 置于日光下观察, 结果见图 2。可知, 供试品色谱图在对照药材相应位置处显相同颜色斑点, 阴性无干扰。



1. 样品 (151006) 2. 样品 (151007) 3. 样品 (150703)
 4. 阴性对照 B. 乳香
 1. sample (151006) 2. sample (151007) 3. sample (150703)
 4. negative control B. *Olibanum*

图2 乳香 TLC 色谱图

Fig. 2 TLC chromatograms of *Olibanum*

2.1.3 白芍

2.1.3.1 供试品溶液制备 取“2.1.1.1”项下剩余的2/3滤液,蒸干,残渣加20 mL水溶解,正丁醇萃取2次,每次20 mL,合并萃取液,20 mL氨试液洗涤,正丁醇溶液再用20 mL水洗涤,蒸干,残渣加1 mL甲醇溶解,即得。

2.1.3.2 对照品溶液制备 取芍药苷对照品适量,加甲醇制成每1 mL含1 mg该成分的溶液,即得。

2.1.3.3 阴性对照溶液制备 取缺白芍药材,按“2.1.3.2”项下方法制备,即得。

2.1.3.4 鉴别方法 吸取供试品、对照药材、阴性对照溶液各5~10 μ L,点于同一硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-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,105 $^{\circ}$ C下加热至斑点显色清晰,置于日光下观察,结果见图3。可知,供试品色谱图在对照品相应位置处显相同颜色斑点,阴性无干扰。

2.1.4 木香

2.1.4.1 供试品溶液制备 取片剂10片,研细,加30 mL石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)超声15 min,过滤,药渣加30 mL甲醇回流15 min,过滤,滤液蒸干,残渣加20 mL水溶解,乙酸乙酯萃取2次,每次20 mL,合并乙酸乙酯液,蒸干,残渣加1 mL乙酸乙酯溶解,即得。

2.1.4.2 对照品溶液制备 取木香烃内酯、去氢木香内酯对照品适量,加甲醇制成每1 mL含两者

1. 样品 (151006) 2. 样品 (151007) 3. 样品 (150703)
 4. 芍药苷 5. 阴性对照
 1. sample (151006) 2. sample (151007) 3. sample (150703)
 4. paeoniflorin 5. negative control

图3 芍药苷 TLC 色谱图
Fig. 3 TLC chromatograms of paeoniflorin

1 mg的溶液,即得。

2.1.4.3 阴性对照溶液制备 取缺木香药材,按“2.1.4.2”项下方法制备,即得。

2.1.4.4 鉴别方法 吸取供试品、对照药材、阴性对照溶液各5~10 μ L,点于同一硅胶G薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯(15:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以5%香草醛硫酸溶液,105 $^{\circ}$ C下加热至斑点显色清晰,置于日光下观察,结果见图4。可知,供试品色谱图在对照品相应位置处显相同颜色斑点,阴性无干扰。

2.1.5 肉桂

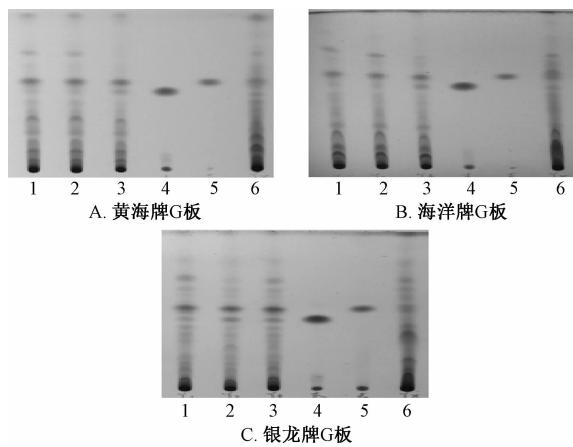
2.1.5.1 供试品溶液制备 取“2.1.2.1”项下溶液,即得。

2.1.5.2 对照品溶液制备 取桂皮醛对照品,乙酸乙酯制成每1 mL含桂皮醛10 μ L的溶液,即得。

2.1.5.3 阴性对照溶液制备 取缺肉桂药材,按“2.1.5.2”项下方法制备,即得。

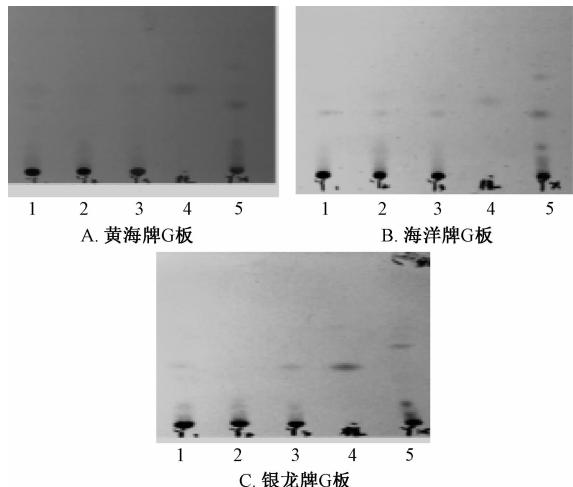
2.1.5.4 鉴别方法 吸取供试品、对照药材、阴性对照溶液各2~10 μ L,点于同一硅胶GF254薄层板上,以石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)-乙酸乙酯(85:15)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以二硝基苯肼乙醇溶液,放置10 min后置于日光下观察,结果见图5。可知,供试品色谱图在对照品相应位置处显相同颜色斑点,阴性无干扰。

2.2 HPLC 定量测定



1. 样品 (151006) 2. 样品 (151007) 3. 样品 (150703)
 4. 木香烃内酯 5. 去氢木香内酯 6. 阴性对照
 1. sample (151006) 2. sample (151007) 3. sample (150703) 4. costunolide 5. dehydrocostus lactone
 6. negative control

图4 木香 TLC 色谱图

Fig. 4 TLC chromatograms of *Aucklandiae Radix*

1. 样品 (151006) 2. 样品 (151007) 3. 样品 (150703)
 4. 桂皮醛 5. 阴性对照
 1. sample (151006) 2. sample (151007) 3. sample (150703) 4. cinnamaldehyde 5. negative control

图5 肉桂 TLC 色谱图

Fig. 5 TLC chromatograms of *Cinnamomi Cortex*

2.2.1 去甲异波尔定、芍药苷

2.2.1.1 色谱条件 Agilent SB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)；以乙腈为流动相 A, 含 0.5% 甲酸 (含有量 98%) 和 0.1% 三乙胺溶液为流动相 B, 梯度洗脱 (程序见表 1)；检测波长 280 nm；进样量 10 μL。理论塔板数以去甲异波尔定计, 应不低于 5 000。

2.2.1.2 方法学考察 去甲异波尔定以峰面积为纵坐标 (Y), 进样量为横坐标 (X), 回归方程

表1 梯度洗脱程序
Tab. 1 Gradient elution programs

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0 ~ 20	10 ~ 22	90 ~ 78
20 ~ 21	22 ~ 80	78 ~ 20
21 ~ 30	80	20
30 ~ 31	80 ~ 10	20 ~ 90

为 $Y = 1.7625 \times 10^7 X + 24435$ ($r = 0.9998$), 在 0.04747 ~ 1.1867 μg 范围内线性关系良好; 仪器精密度良好, 峰面积 RSD ($n = 6$) 为 0.8%; 方法重复性良好, 含有量 RSD ($n = 6$) 为 1.0%; 24 h 内供试品溶液稳定性良好, 峰面积 RSD ($n = 6$) 为 0.8%; 平均加样回收率为 93.72%, RSD ($n = 6$) 为 1.7%。图 6 显示, 阴性无干扰。

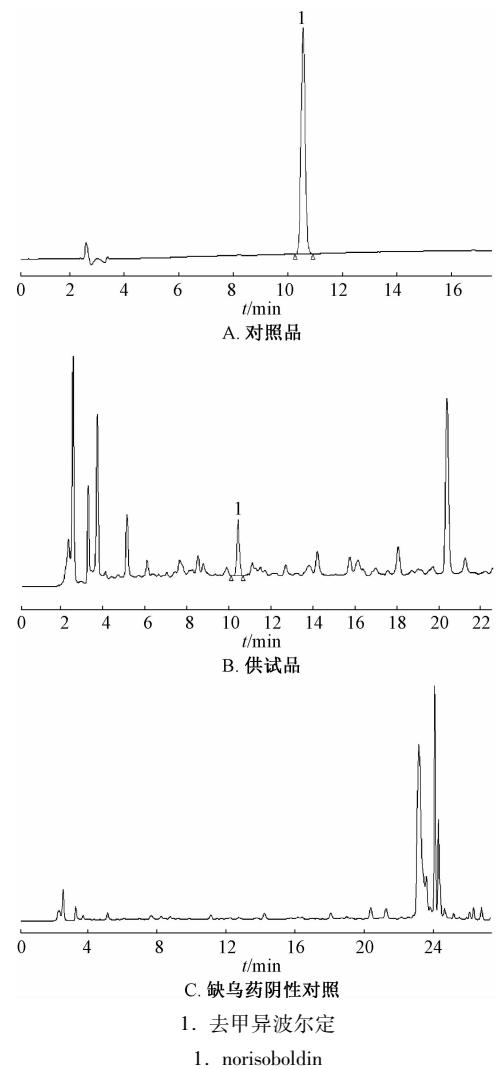


图6 去甲异波尔定 HPLC 色谱图

Fig. 6 HPLC chromatograms of norisoboldine

芍药苷以峰面积为纵坐标 (Y), 进样量为横坐标 (X), 回归方程为 $Y = 1.1235X \times 10^7 + 36045$ ($r = 0.9998$), 在 0.192 ~ 1.921 μg 范围内

线性关系良好；仪器精密度良好，峰面积 RSD ($n=6$) 为 0.6%；方法重复性良好，含有量 RSD ($n=6$) 为 0.6%；供试品溶液 24 h 内稳定性良好，峰面积 RSD ($n=6$) 为 1.2%；平均加样回收率为 93.29%，RSD ($n=6$) 为 1.8%。图 7 显示，阴性无干扰。

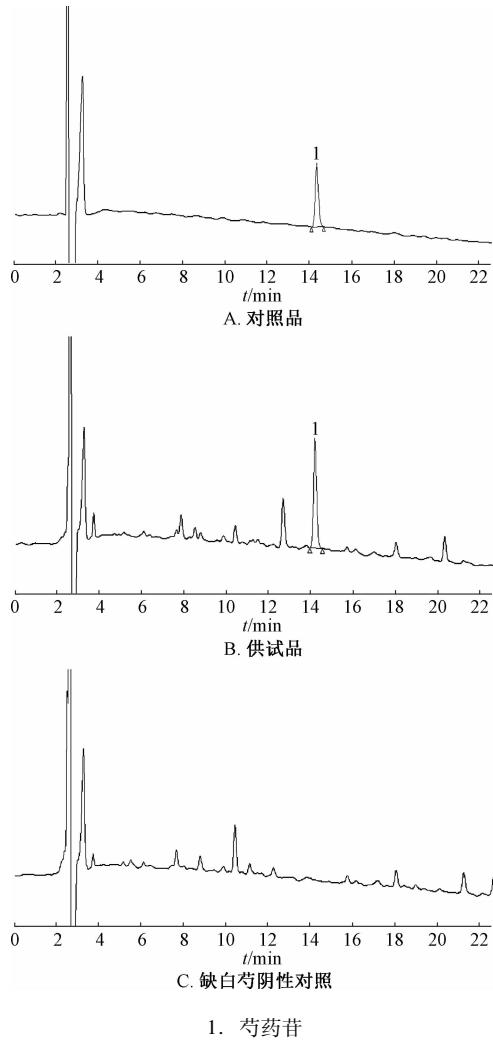


图 7 芍药苷 HPLC 色谱图

Fig. 7 HPLC chromatograms of paeoniflorin

2.2.2 橙皮苷

2.2.2.1 色谱条件 Agilent SB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm)；以甲醇-水 (33:67) 为流动相，等度洗脱；检测波长 284 nm；进样量 10 μL。理论塔板数以芍药苷计算，应不低于 3 000。

2.2.2.2 方法学考察 以峰面积为纵坐标 (Y)，进样量为横坐标 (X)，回归方程为 $Y = 1.8803 \times 10^7 X - 8570.5$ ($r = 0.9999$)，在 0.105 1 ~ 1.051 μg 范围内线性关系良好；仪器精密度良好，

峰面积 RSD ($n=6$) 为 0.8%；方法重复性良好，含有量 RSD ($n=6$) 为 0.9%；供试品溶液 24 h 内稳定性良好，峰面积 RSD ($n=6$) 为 1.0%；平均加样回收率为 96.22%，RSD ($n=6$) 为 1.2%。图 8 显示，阴性无干扰。

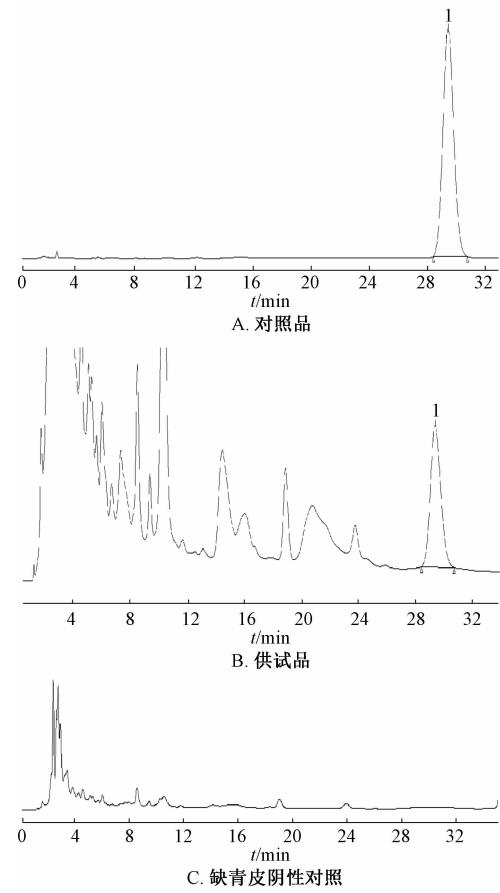


图 8 橙皮苷 HPLC 色谱图

Fig. 8 HPLC chromatograms of hesperidin

2.2.3 样品含有量测定 结果见表 2。

表 2 各成分含有量测定结果 ($n=5$)Tab. 2 Results of content determination of various constituents ($n=5$)

批号	片质量/g	去甲异波尔定/ (mg·片 ⁻¹)	芍药苷/ (mg·片 ⁻¹)	橙皮苷/ (mg·片 ⁻¹)
150701	0.4019	0.1065	2.2733	0.3773
150702	0.4000	0.1079	2.2830	0.3776
150703	0.4004	0.1061	2.2800	0.3772
151006	0.3999	0.1063	1.7117	0.4111
151007	0.4006	0.1050	1.7190	0.3975

3 讨论

胃气痛片由 13 味药材组成，本实验除了对其

中青皮、乳香、白芍、木香、肉桂5味药材,以及去甲异波尔定、芍药苷、橙皮苷3种成分进行定性或定量测定外,还针对郁金^[12-13]、香附、乌药进行了TLC研究,按极性大小分别进行提取、制备、纯化,尝试不同极性展开系统进行展开,不同显色剂进行检验,但均未获得满意结果,存在阴性样品干扰、未见特征斑点、检验条件不符合等问题,故未将该部分纳入质量标准中。

在测定去甲异波尔定、芍药苷含有量时,两者应用同一供试品溶液,在相同色谱条件下进行分离检测,但前者最大检测波长为280 nm,后者为230 nm,差异较大。本实验曾通过转变检测波长的方式对两者同时进行测定,再应用5根不同生产厂家、粒径、长度的色谱柱进行反复试验,但存在出峰时间不恒定、出峰顺序不确定、无法设置波长变动点等因素。虽然这2种成分含有量的测定均应用以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂的色谱柱,但各生产企业填料技术不同,对填料封端的处理也有所差异,很可能导致待测成分在色谱柱的保留上发生一些改变,这与以往经验是相悖的。

胃气痛片组成药材大多气味浓郁,含有较多的挥发性成分,故本实验曾应用GC法对其进行全谱图研究。但由于样品收集量较少,缺少代表性,而且所得谱图与理论分析在色谱峰数量上有较大出入,故也未将该部分纳入质量标准中。

参考文献:

[1] 刘晶莹,方洪壮.药对木香-乌药与其单味药挥发油化学成

- 分GC-MS的比较分析[J].齐齐哈尔医学院学报,2012,33(9):1123-1125.
- [2] 刘长斌,徐厚谦.丁香与郁金的配伍应用[J].中医临床研究,2014,6(31):19-20.
- [3] 朱小芳,管咏梅,刘莉,等.乳香、没药药对的研究进展[J].江西中医药,2016,47(12):72-75.
- [4] 苗明三,王智民.对药的化学、药理与临床[M].北京:军事医学科学出版社,2002:387.
- [5] 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(中药成方制剂第十三册)[S].1997.
- [6] 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,2015:71.
- [7] 方玲,陈方亮,余翠琴,等.不同产地乌药的HPLC指纹图谱研究[J].中草药,2013,44(2):229-231.
- [8] 陈建忠,俞桂新,王长虹,等.去甲异波尔定及其代谢产物的药动学与生物利用度研究[J].中国现代应用药学,2012,29(6):473-477.
- [9] 吴瑶,岳显可,葛卫红,等.乌药不同部位乌药醚内酯、去甲异波尔定含量比较和FT-NIR光谱分析[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(11):73-78.
- [10] 刘正清,杨华,易跃能.乌药药材水提液的HPLC指纹图谱研究[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(12):127-129.
- [11] 张婷.HPLC法同时测定胃气痛片中芍药苷与橙皮苷的含量[J].安徽医药,2014,18(11):2077-2079.
- [12] 林娟,王述,周福军,等.毛郁金化学成分的分离与鉴定[J].沈阳药科大学学报,2016,33(11):850-853,888.
- [13] 冯庆华.郁金药理及中医临床应用略述[J].现代养生,2016(14):165.