

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200610163211.2

[51] Int. Cl.

G01N 30/00 (2006.01)

G01N 30/90 (2006.01)

G01N 30/02 (2006.01)

G01N 33/15 (2006.01)

[43] 公开日 2007年5月30日

[11] 公开号 CN 1971265A

[22] 申请日 2006.12.6

[21] 申请号 200610163211.2

[71] 申请人 中国科学院长春应用化学研究所

地址 130022 吉林省长春市人民大街 5625 号

[72] 发明人 刘志强 越皓 皮子凤 刘淑莹

宋凤瑞 金东明

[74] 专利代理机构 长春科宇专利代理有限责任公司

代理人 马守忠

权利要求书 2 页 说明书 5 页

[54] 发明名称

复方夏连胶囊的成分检测方法

[57] 摘要

本发明是对复方夏连胶囊的成分检测方法。为了解决高效和定量的检测中成药的成分含量，本发明采取液相色谱技术结合薄层鉴别技术，提供能定性、定量检测中成药的成分含量的方法。尤其是通过液相色谱和薄层鉴别的指纹特征能够鉴定复方夏连胶囊，本发明采用高效液相色谱检测复方夏连胶囊成药的黄连中盐酸小檗碱的含量，并定性鉴别人参、炙甘草、黄芩的主要成分，从而为确保复方夏连胶囊成药成分的质量稳定、安全可靠，提供质量控制更科学和更高效方法。

1. 一种复方夏连胶囊的成分含量检测方法,其特征在于,步骤和条件如下:

I、 复方夏连胶囊成品的观察与薄层鉴别

(1)取复方夏连胶囊成品观察,内容物为棕黄色至棕褐色粉末,气微,味苦;

(2)取复方夏连胶囊成品内容物 2g,加水饱和正丁醇 30ml,放置 30 分钟,超声处理 30 分钟,放冷,离心 10 分钟(2000 转/分钟),倾取上清液,用正丁醇饱和氨试液提取 3 次,每次 20ml,弃去,正丁醇层蒸干,残渣加 2ml 甲醇使溶解,加中性氧化铝 2g(100 目-200 目)拌匀,水浴上挥尽甲醇后,加中性氧化铝柱(100 目-200 目,内径 1.5cm,高 3cm),用体积比为 1:1 的乙酸乙酯与甲醇混合溶液洗脱,洗至无色时,弃去,再用 40%甲醇洗脱,收集洗脱液 80ml,蒸干,残渣加甲醇 1ml 使溶解,作为检测品溶液;

另取人参皂苷 Re、Rg₁ 对照品,加甲醇制成黄芩苷含量为 1mg /ml 的混合溶液;

吸取上述两种溶液各 5ul,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以体积比为 15: 22: 40: 10 的氯仿、甲醇、乙酸乙酯和水混合溶液 4℃放置过夜的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10%硫酸乙醇溶液,105℃加热至斑点显色清晰;

检测品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点;

(3)取检测品 1g,加 5%碳酸氢钠溶液 30ml,超声 30 分钟,放冷,离心,上清液用 10%硫酸溶液调 pH2-3,用乙醚提取 3 次,每次 20ml,弃去,继续用乙酸乙酯提取 3 次,每次 20ml,合并提取液,蒸干,药渣加甲醇 1ml 使溶解,作为检测品溶液;

另取黄芩苷对照品,加甲醇制成黄芩苷含量为 1mg /1ml 的混合溶液,作为对照品溶液。

吸取检测品溶液 10ul、对照品溶液 5ul,分别点于同一硅胶 G 薄层板

上,以体积比为 5: 3: 1: 1 的乙酸乙酯、丁酮、甲酸和水混合溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5%三氯化铁溶液,热风吹至显色清晰;

检测品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点;

(4)取检测品 1g,加 5%碳酸氢钠溶液 30ml,超声 30 分钟,放冷,离心,上清液用 10%硫酸溶液调 pH2-3,用乙醚提取 3 次,每次 20ml,弃去,继续用乙酸乙酯提取 3 次,每次 20ml,合并提取液,蒸干,残渣加甲醇 1ml 使溶解,作为检测品溶液;

另取炙甘草药材,同法制成对照药材溶液;

吸取对照品溶液、检测品溶液各 8ul,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以体积比为 6.5: 3.5: 0.2 的石油醚 (60-90℃)、乙酸乙酯和甲酸混合溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10%硫酸乙醇溶液,热风吹至显色清晰;

检测品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点;

II. 含量测定

(1)色谱条件与系统适用性试验,用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;乙腈与乙酸铵水溶液的体积比为 31: 69,其中乙酸铵水溶液的浓度为 0.0034mol/L 并用磷酸调 pH 为 3.0,其为流动相;检测波长为 265nm;理论板数按盐酸小檗碱峰计算应不低于 5000;

(2)对照品溶液的制备,精密称取盐酸小檗碱对照品 10mg,置于 100ml 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至 100ml,吸取 10ml 置于 25ml 量瓶中,用甲醇溶解并稀释,摇匀;

(3)精密称取复方夏连胶囊成品 0.4g,置索氏提取器中,加甲醇与盐酸体积比为 100: 1 的混合溶液至能够回流,回流提取 5 小时,浓缩置于 50ml 量瓶中,并用甲醇与盐酸体积比为 100: 1 的混合溶液稀释至 50ml;精密吸取 5ml,上中性氧化铝柱(100-200 目,内径 1.5cm,高 3cm),以乙醇 50ml 洗脱,收集洗脱液,水浴蒸干,残渣加甲醇与水体积比为 31: 69 的混合溶液溶于 50ml 量瓶中,并用甲醇与水体积比为 31: 69 的混合溶液稀释至 50ml,摇匀,即得复方夏连胶囊成品检测品溶液;

(4)分别精密吸取对照品溶液与上述检测品溶液各 10ul,注入液相色谱仪,测定复方夏连胶囊成品每粒(0.4g)含盐酸小檗碱不低于 9mg。

复方夏连胶囊的成分检测方法

技术领域

本发明涉及一种复方夏连胶囊的成分检测方法。

背景技术

传统中成药检测方法只能定性说明中成药的成分。高效和定量的检测中成药的成分，是现代中药产业急需解决的技术问题。复方夏连胶囊组方应用于临床多年，疗效显著，现已向国家食品药品监督管理局申请新药临床批号。迄今为止，尚未有科学的检测方法对其进行检测。

发明内容

为了解决高效和定量的检测复方夏连胶囊的成分含量，本发明采取液相色谱技术结合薄层鉴别技术，提供能定性、定量检测复方夏连胶囊的成分含量的方法。其中黄连、人参、炙甘草、黄芩是该胶囊的主要成分，由于中药制备中的配伍作用，形成了特定含量的有效成分组，对于保证药效具有决定作用。胶囊成分的唯一性决定了化合物含量的唯一性。尤其是通过液相色谱和薄层鉴别的指纹特征能够鉴定复方夏连胶囊。本发明采用高效液相色谱检测复方夏连胶囊的黄连中盐酸小檗碱的含量，并定性鉴别人参、炙甘草、黄芩的主要成分，从而为确保复方夏连胶囊成药成分的质量稳定、安全可靠，提供质量控制的科学和高效检测方法。

实现本发明的技术方案如下：

本发明的复方夏连胶囊成分及重量%比为：法半夏 3.5，黄连 18.5，干姜 18.5，人参 9.5，黄芩 18.5，厚朴 9，乳香 3.5，炙甘草 19。

I、复方夏连胶囊成品的观察与薄层鉴别

(1)取复方夏连胶囊成品观察，内容物为棕黄色至棕褐色粉末，气微，味苦；

(2)取复方夏连胶囊成品内容物 2g，加水饱和正丁醇 30ml,放置 30 分钟，

超声处理 30 分钟，放冷，离心 10 分钟（2000 转/分钟），倾取上清液，用正丁醇饱和氨试液提取 3 次，每次 20ml，弃去，正丁醇层蒸干，残渣加 2ml 甲醇使溶解，加中性氧化铝 2g（100 目—200 目）拌匀，水浴上挥尽甲醇后，加中性氧化铝柱（100 目—200 目，内径 1.5cm，高 3cm），用体积比为 1:1 的乙酸乙酯与甲醇混合溶液洗脱，洗至无色时，弃去，再用 40% 甲醇洗脱，收集洗脱液 80ml，蒸干，残渣加甲醇 1ml 使溶解，作为检测品溶液；

另取人参皂苷 Re、Rg₁ 对照品，加甲醇制成黄芩苷含量为 1mg /ml 的混合溶液；

吸取上述两种溶液各 5ul，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以体积比为 15: 22: 40: 10 的氯仿、甲醇、乙酸乙酯和水混合溶液 4℃ 放置过夜的下层溶液为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 10% 硫酸乙醇溶液，105℃ 加热至斑点显色清晰；

检测品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点；

(3) 取检测品 1g，加 5% 碳酸氢钠溶液 30ml，超声 30 分钟，放冷，离心，上清液用 10% 硫酸溶液调 pH2-3，用乙醚提取 3 次，每次 20ml，弃去，继续用乙酸乙酯提取 3 次，每次 20ml，合并提取液，蒸干，药渣加甲醇 1ml 使溶解，作为检测品溶液；

另取黄芩苷对照品，加甲醇制成黄芩苷含量为 1mg /1ml 的混合溶液，作为对照品溶液。

吸取检测品溶液 10ul、对照品溶液 5ul，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以体积比为 5: 3: 1: 1 的乙酸乙酯、丁酮、甲酸和水混合溶液为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 5% 三氯化铁溶液，热风吹至显色清晰；

检测品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点；

(4) 取检测品 1g，加 5% 碳酸氢钠溶液 30ml，超声 30 分钟，放冷，离心，上清液用 10% 硫酸溶液调 pH2-3，用乙醚提取 3 次，每次 20ml，弃去，继续用乙酸乙酯提取 3 次，每次 20ml，合并提取液，蒸干，残渣加甲醇 1ml 使溶解，作为检测品溶液；

另取炙甘草药材，同法制成对照药材溶液；

吸取对照品溶液、检测品溶液各 8ul，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以体积比为 6.5: 3.5: 0.2 的石油醚（60-90℃）、乙酸乙酯和甲酸混合溶液为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 10%硫酸乙醇溶液，热风吹至显色清晰；

检测品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点。

II. 含量测定

(1)色谱条件与系统适用性试验，用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；乙腈与乙酸铵水溶液的体积比为 31: 69，其中乙酸铵水溶液的浓度为 0.0034mol/L 并用磷酸调 pH 为 3.0，其为流动相；检测波长为 265nm；理论板数按盐酸小檗碱峰计算应不低于 5000；

(2)对照品溶液的制备，精密称取盐酸小檗碱对照品 10mg，置于 100ml 量瓶中，用甲醇溶解并稀释至 100ml，吸取 10ml 置于 25ml 量瓶中，用甲醇溶解并稀释，摇匀；

(3)精密称取复方夏连胶囊胶囊成品 0.4g，置索氏提取器中，加甲醇与盐酸体积比为 100: 1 的混合溶液至能够回流，回流提取 5 小时，浓缩置于 50ml 量瓶中，并用甲醇与盐酸体积比为 100: 1 的混合溶液稀释至 50ml；精密吸取 5ml，上中性氧化铝柱(100—200 目，内径 1.5cm，高 3cm)，以乙醇 50ml 洗脱，收集洗脱液，水浴蒸干，残渣加甲醇与水体积比为 31: 69 的混合溶液溶于 50ml 量瓶中，并用甲醇与水体积比为 31: 69 的混合溶液稀释至 50ml，摇匀，即得复方夏连胶囊胶囊成品检测品溶液；

(4)分别精密吸取对照品溶液与上述检测品溶液各 10ul，注入液相色谱仪，测定复方夏连胶囊胶囊成品每粒(0.4g)含盐酸小檗碱不低于 9mg。

上述步骤并不需要按照先后顺序进行。而且同时还可以进行常规检测。该复方夏连胶囊胶囊成品为胶囊剂，符合胶囊剂项下有关的各项规定（中国药典 2000 年版一部附录 I L）。经本发明的方法检测，符合以上条件的复方夏连胶囊胶囊成品为合格品。

本发明定性和定量检测了复方夏连胶囊胶囊成品的成分含量，有利于对复方夏连胶囊胶囊成品的质量的科学和有效控制。

具体实施方式

实施例 1：一种复方夏连胶囊成品的成分含量检测方法，包含如下步骤和条件：

1. 复方夏连胶囊成品的观察与薄层鉴别

(1)取复方夏连胶囊成品观察，内容物为棕黄色至棕褐色粉末；气微，味苦；

(2)取复方夏连胶囊成品内容物 2g，加水饱和正丁醇 30ml，放置 30 分钟，超声处理 30 分钟，放冷，离心 10 分钟（2000 转/分钟），倾取上清液，用正丁醇饱和氨试液提取 3 次，每次 20ml，弃去，正丁醇层蒸干，残渣加 2ml 甲醇使溶解，加中性氧化铝 2g（100 目—200 目）拌匀，水浴上挥尽甲醇后，加中性氧化铝柱（100 目—200 目，内径 1.5cm，高 3cm），用体积比为 1：1 的乙酸乙酯与甲醇混合溶液洗脱，洗至无色时，弃去，再用 40%甲醇洗脱，收集洗脱液 80ml，蒸干，残渣加甲醇 1ml 使溶解，作为检测品溶液。

另取人参皂苷 Re、Rg₁ 对照品，加甲醇制成甲醇含量为 1mg /ml 的混合溶液。吸取上述两种溶液各 5ul，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以体积比为 15：22：40：10 的氯仿、甲醇、乙酸乙酯和水混合溶液 4℃放置过夜的下层溶液为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 10%硫酸乙醇溶液，105℃加热至斑点显色清晰。

检测品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点；

(3)取检测品 1g，加 5%碳酸氢钠溶液 30ml，超声 30 分钟，放冷，离心，上清液用 10%硫酸溶液调 pH2-3，用乙醚提取 3 次，每次 20ml，弃去，继续用乙酸乙酯提取 3 次，每次 20ml，合并提取液，蒸干，药渣加甲醇 1ml 使溶解，作为检测品溶液。

另取黄芩苷对照品，加甲醇制成黄芩苷含量为 1mg /ml 的混合溶液，作为对照品溶液。

吸取检测品溶液 10ul、对照品溶液 5ul，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以体积比为 5：3：1：1 的乙酸乙酯、丁酮、甲酸和水混合溶液为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 5%三氯化铁溶液，热风吹至显色清晰。

检测品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的斑点；

(4)取检测品 1g, 加 5%碳酸氢钠溶液 30ml, 超声 30 分钟, 放冷, 离心, 上清液用 10%硫酸溶液调 pH2-3, 用乙醚提取 3 次, 每次 20ml, 弃去, 继续用乙酸乙酯提取 3 次, 每次 20ml, 合并提取液, 蒸干, 残渣加甲醇 1ml 使溶解, 作为检测品溶液。

另取炙甘草药材, 同法制成对照药材溶液。吸取对照品溶液、检测品溶液各 8ul, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以体积比为 6.5: 3.5: 0.2 的石油醚 (60-90℃)、乙酸乙酯和甲酸混合溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10%硫酸乙醇溶液, 热风吹至显色清晰。

检测品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。

2. 含量测定

(1)色谱条件与系统适用性检验, 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 乙腈与乙酸铵水溶液的体积比为 31: 69, 其中乙酸铵水溶液的浓度为 0.0034mol/L 并用磷酸调 pH 为 3.0, 其为流动相; 检测波长为 265nm。理论板数按盐酸小檗碱峰计算应不低于 5000;

(2)对照品溶液的制备, 精密称取盐酸小檗碱对照品 10mg, 置于 100ml 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至 100ml, 吸取 10ml 置于 25ml 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释, 摇匀;

(3)精密称取复方夏连胶囊成品 0.4g, 置索氏提取器中, 加甲醇与盐酸体积比为 100: 1 的混合溶液至能够回流, 回流提取 5 小时, 浓缩置于 50ml 量瓶中, 并用甲醇与盐酸体积比为 100: 1 的混合溶液稀释至 50ml。精密吸取 5ml, 上中性氧化铝柱(100-200 目, 内径 1.5cm, 高 3cm), 以乙醇 50ml 洗脱, 收集洗脱液, 水浴蒸干, 残渣加甲醇与水体积比为 31: 69 的混合溶液溶于 50ml 量瓶中, 并用甲醇与水体积比为 31: 69 的混合溶液稀释至 50ml, 摇匀, 即得复方夏连胶囊成品检测品溶液。

(4)分别精密吸取对照品溶液与上述检测品溶液各 10ul, 注入液相色谱仪, 测定。复方夏连胶囊成品每粒(0.4g)含盐酸小檗碱不低于 9mg。

上述步骤并不需要按照先后顺序进行。