

文章编号: 1008-9926(2006)06-0431-03 中图分类号: R917 文献标识码: A

芩连消痤丸的质量标准研究

刘晋华^①, 李玉萍, 尤光甫

(中国人民解放军第 251 医院 河北 张家口 075000)

摘要: 目的 建立芩连消痤丸的质量控制标准。方法 采用 TLC 法鉴别制剂中黄连、当归、赤芍, 采用 HPLC 法测定黄芩苷含量。结果 薄层色谱鉴别的 3 种供试品色谱, 在与对照品或对照药材色谱相应的位置上均能显示相同颜色的斑点; 黄芩苷含量测定平均回收率为 99.67%, RSD 为 1.16%。结论 该方法操作简便、灵敏准确, 重现性好, 可作为该制剂的质量控制标准。

关键词: 芩连消痤丸; 黄芩苷; TLC; HPLC

Studies on Quality Control Standard of Qinlianxiaocuo Pills

LIU Jin-Hua^①, LI Yu-Ping, YOU Guang-Fu

(No. 251 Hospital of PLA, Zhangjiahou 075000 Hebei China)

ABSTRACT: **Aim** To establish a method for quality control of Qinlianxiaocuo pills. **Methods** Rhizoma coptidis, Radix angelicae sinensis and Radix paeoniae rubra in Qinlianxiaocuo pills were qualitatively identified by TLC. The content of baicalin was determined by HPLC. **Results** The TLC indicated that three identified herbs can show the same color spot with the control herbs or contrast in the same position. The average recoveries of baicalin was 99.67%, $RSD = 1.16\%$. **Conclusions** The method was sensitive, reliable and simple and can be used in the quality control of Qinlianxiaocuo pills.

KEY WORDS Qinlianxiaocuo Pills; Baicalin; TLC; HPLC

芩连消痤丸是由黄芩、黄连、当归、赤芍等 10 味中药组成, 具有清热燥湿、泻火解表之功效, 对寻常型痤疮、脓疱型痤疮有良好的治疗效果。为控制该制剂的内在质量, 本文采用 TLC 法对制剂中黄连、当归、赤芍进行了鉴别; 采用 RP-HPLC 法对黄芩中的黄芩苷进行了含量测定。

1 仪器与试药

1.1 仪器 LC-20AT 高效液相色谱仪, SPD-M 20A 二极管阵列检测器 (均为日本岛津制作所); CTO-20A 柱温箱, 多通道工作站 (Workstation 公司); BP211D 电子分析天平 (德国赛多利斯公司); KQ-100DB 数据超声处理器 (昆山超声仪器有限公司); 功率 250W; 频率 50Hz。

1.2 试药 薄层层析硅胶 G (青岛海洋化工厂);

黄芩苷对照品、盐酸小檗碱对照品、芍药苷对照品、黄连、当归对照药材 (均为中国药品生物制品检定所); 芩连消痤丸 (规格: 48g/瓶, 本院中药制剂室, 批号 050512, 050804, 051210, 060224, 060301); 乙醇、甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

2 鉴别

2.1 黄连的鉴别^[1,2] 取芩连消痤丸适量, 充分研细后取细粉 10g, 置碘量瓶中加乙醇 20ml, 超声震荡提取 30min, 滤过, 滤液作为供试品溶液; 取缺黄连的样品, 按供试品溶液制备方法制得阴性对照液; 取黄连对照药材细粉 0.5g, 依供试品溶液制备法制得对照药材溶液; 另取盐酸小檗碱对照品适量, 加乙醇制成含 0.5mg/ml 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法试验, 吸取上述溶液各 5μl 分别点于同一

文献出版社重庆分社, 1982: 2890

科学出版社, 2001: 135~137

[9] 张永明, 黄际薇, 陶玲, 等. 咽喉灵口服液的体外抗菌作用 [J]. 中国医院药学杂志, 2003, 23(3): 153

(收稿日期: 2006-01-17; 修回日期: 2006-05-10)

(本文编辑 狄亚敏)

[10] 孙汉董, 许云龙, 姜北. 香茶菜属植物二萜化合物 [M]. 北京:

① 作者简介: 刘晋华 (1954-), 女, 河北任邱人, 学士, 副主任药师。研究方向: 药物分析。Tel: (0313) 8785290

硅胶 G 薄层板上,以正丁醇-冰醋酸-水 (7:1:2)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外灯 (365nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品及对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,阴性对照液无此斑点,结果见图 1。

2.2 当归的鉴别^[1,2] 取芩连消痤丸适量,充分研细后取细粉 10g 置碘量瓶中加乙醇 20ml 超声震荡提取 30min 滤过,滤液作为供试品溶液;取缺当归的样品,依供试品溶液制备方法制成阴性对照液;另取当归对照药材 1g,同法制成对照药材溶液。分别吸取上述 3 种溶液各 2μl 点于同一硅胶 G 薄层板上,以正己烷-醋酸乙酯 (9:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外灯 (365nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,阴性对照无此斑点,见图 2。

2.3 赤芍的鉴别^[1,2] 取芩连消痤丸适量,充分研细后取细粉 10g,加乙醇 30ml 浸渍并不断振摇 30min 滤过,滤液蒸干,残渣加无水乙醇 2ml 使溶解,作为供试品溶液;取缺赤芍的样品,按供试品溶液制备法制得阴性对照液;另取芍药苷对照品适量,加无水乙醇制成含 2mg/ml 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法试验,吸取上述溶液各 5μl 分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-醋酸乙酯-甲醇-甲酸 (8:1:2:0.04)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 香草醛硫酸溶液,加热至斑点清晰。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,阴性对照液无此斑点,见图 3。

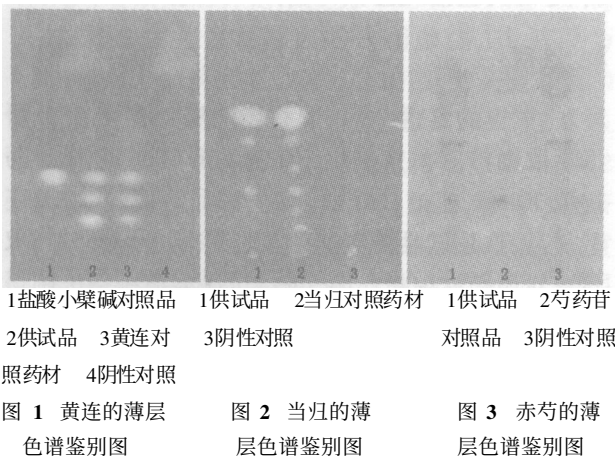


Fig1 TLC chromatogram of Rhizoma coptidis Fig2 TLC chromatogram of Radix angelicae sinensis Fig3 TLC chromatogram of Radix paeoniae rubra

3 检查

3.1 水分 照《中国药典》2005年版一部附录 IXH 水分测定法第一法测定,含水量为 4.8%。

3.2 重量差异 照《中国药典》2005年版一部附录 IA 丸剂项下重量差第二法检查,重量差异限度为 ±10%,每份供试品与平均重量相比较,超出重量差异限度的不多于 2 份,并未有 1 份超出限度 1 倍。

3.3 装量差异 照《中国药典》2005年版一部附录 XIC 最低装量检查法检查,平均装量不少于标示装量,每个容器装量不少于标示装量的 93%。

3.4 溶散时限 照《中国药典》2005年版一部附录 IA 丸剂项下溶散时限检查,在 1h 内全部溶散。

3.5 微生物限度 照《中国药典》2005年版一部附录 XIII C 微生物限度检查法,采用薄膜过滤法检查,细菌数 560 个/g 霉菌和酵母菌 14 个/g 未检出大肠埃希菌/g 大肠菌群 22 个/g。

4 含量测定

4.1 色谱条件 色谱柱: Shim-pack VP-ODS (4.6mm × 250mm, 5μm); 流动相: 乙腈-0.3% 磷酸溶液 (20:80); 检测波长: 276nm; 流速: 1.0ml/min; 灵敏度: 0.02AUFS; 柱温: 30℃; 进样量: 10μl 外标法测定。

4.2 供试溶液制备

4.2.1 样品溶液制备 取芩连消痤丸 20 丸,充分研细,精密称取细粉 0.3g 置锥形瓶内,精密加入 70% 甲醇 25ml 密塞,称定重量,超声处理 30min 放冷,再称定重量,用 70% 甲醇补足减失的重量,摇匀,过 0.45μm 微孔滤膜,作为供试品溶液。

4.2.2 阴性空白对照溶液制备 按其质量标准中的处方比例,依样品溶液制备方法制备缺黄芩的阴性空白对照溶液。

4.2.3 对照品溶液制备 精密称取 60℃ 减压干燥 4h 的黄芩苷对照品适量,加 70% 甲醇溶解并定容,制成 200μg/ml 的对照品溶液。

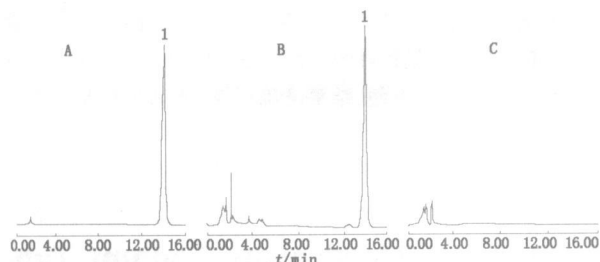
4.3 系统适用性试验 取黄芩苷对照品溶液、阴性空白对照溶液和样品溶液,在上述色谱条件下分别进样 10μl 测绘 HPLC 图谱,结果见图 4。由图 4 可知,阴性空白对照溶液在黄芩苷对照品出峰区域无其他峰出现,表明样品对黄芩苷的测定无干扰。理论板数按黄芩苷峰计算不应低于 3000 分离度 > 1.5 黄芩苷对称因子为 0.95~1.05 之间,保留时间为 14.12min。

4.4 线性关系试验 精密称取 60℃ 减压干燥 4h 的黄芩苷对照品 25.12mg 置 50ml 量瓶中,加 70% 甲醇溶解并定容,摇匀,制成 502.4μg/ml 的对照品储备液。精密吸取上述储备液 1.0、3.0、5.0、7.0、9.0、11.0ml 分别置 25ml 量瓶中,加 70% 甲醇

稀释至刻度, 摇匀。在选定的色谱条件下, 进样 10 μ l 测定峰面积, 以峰面积积分值 (Y) 对进样量 (X) 进行回归处理, 得回归方程

$$Y = 2 \times 10^6 X - 2.0132 \times 10^4, r = 0.9999$$

结果表明, 黄芩苷进样量在 0.2010~2.2106 μ g 范围内线性关系良好。



A 对照品 B 样品 C 阴性样品 1 黄芩苷

图 4 高效液相色谱图

Fig 4 HPLC chromatograms of Qinlianxiaocuo pills

4.5 精密度试验 精密吸取黄芩苷对照品溶液, 按上述色谱条件进样 10 μ l 重复 6 次, 记录峰面积, 结果 RSD 为 0.66%; 再取同一批号供试品溶液, 重复进样 6 次, RSD 为 1.32%。

4.6 重复性试验 取批号为 050512 的芩连消瘕丸, 按样品溶液制备方法操作, 平行测定 6 份, 结果黄芩苷平均含量为 10.028 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 为 1.43%。

4.7 稳定性试验 分别精密吸取新鲜配制的样品溶液和上述对照品溶液, 每隔 2h 进样 10 μ l 测定 24h 测得峰面积并计算, 结果样品溶液黄芩苷的平均峰面积 RSD 为 1.07% ($n = 12$); 对照品溶液黄芩苷的平均峰面积 RSD 为 0.48% ($n = 12$), 表明样品溶液及对照品溶液在 24h 内测定结果稳定。

4.8 加样回收率试验 取已测得含量的芩连消瘕丸 (批号 050512, 含量 10.028 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) 细粉约 0.15g 精密称定, 共 6 份, 分别置具塞锥形瓶中, 依次精密加入黄芩苷对照品溶液 (502.4 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) 0.5, 2.0, 5.0 μ l 按供试品溶液制备方法操作, 依上述色谱条件测定黄芩苷含量并计算回收率, 结果见表 1。

表 1 回收率测定结果 ($n = 3$)

Tab1 Results of recovery ($n = 3$)

样品称量 (g)	样品量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	$\bar{x}$ (%)	RSD (%)
0.1521	1.5253	0.2512	1.7716	98.05		
0.1504	1.5082	0.2512	1.7604	100.40		
0.1513	1.5172	1.0048	2.5210	99.90	99.67	1.16
0.1509	1.5132	1.0048	2.5208	100.28		
0.1533	1.5373	2.5120	4.0125	98.54		
0.1516	1.5202	2.5120	4.0608	101.14		

4.9 样品测定 按供试品溶液制备方法制备 5 批样品溶液, 分别取续滤液 10 μ l 进样, 记录色谱峰面积, 外标法计算样品中黄芩苷的含量, 结果见表 2。

表 2 样品测定结果 ($n = 3$)

Tab2 Determination results of samples ($n = 3$)

批号	黄芩苷 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	RSD (%)
050512	10.028	0.65
050804	13.254	1.22
051210	11.473	1.94
060224	10.836	2.05
060301	12.190	1.73

5 讨论

5.1 本文应用 TLC 法鉴别制剂中的黄连、当归、赤药, 应用 HPLC 法建立了黄芩苷的含量测定方法, 方法简便易行, 结果可靠。

5.2 检测波长选择 取黄芩苷对照品, 按上述色谱条件, 在二极管阵列检测器上 (200~400nm) 对黄芩苷峰进行紫外扫描, 结果黄芩苷在 276nm 波长处有最大吸收且灵敏度高, 故选择 276nm 作为检测波长。

5.3 样品提取 参照有关文献^[3], 分别对下列条件进行比较, (1) 提取溶剂: 50% 甲醇、70% 甲醇及甲醇; (2) 提取方法: 直接超声处理、预浸 1h 后超声处理、回流提取; (3) 提取时间: 20, 30, 40min。结果显示, 70% 甲醇直接超声处理 30min 提取效果最佳。

5.4 柱温选择 经试验证明, 柱温在 30 $^{\circ}\text{C}$ 时既能加快分析速度, 又可保持出峰时间的恒定。

5.5 流动相确定 参照药典方法及有关文献^[4], 考察了甲醇-0.3% 磷酸溶液 (45:55)、乙腈-0.3% 磷酸溶液 (20:80) 为流动相的分离效果, 结果表明乙腈-0.3% 磷酸溶液 (20:80) 的流动相配比条件下, 黄芩苷峰形好且分离效果佳。

参考文献:

- [1] 吕武清, 龙新华. 中成药中的药材色谱鉴别 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997. 487, 498, 216, 290.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (一部) [S]. 北京: 化学工业出版社, 2005 附录 VI, 31.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (一部) [S]. 北京: 化学工业出版社, 2005. 211, 477.
- [4] 周静安. RP-HPLC 法测定炎可宁片中黄芩苷的含量研究 [J]. 中医药学刊, 2005. 23(2): 353.

(收稿日期: 2006-03-22 修回日期: 2006-09-29)

(本文编辑 梁爱君)