

白黄散胶囊质量标准的研究

仇雅静¹, 郁杰², 叶慧¹, 陈骁鹏¹

(1. 江苏省泰州药品检验所, 泰州 225300; 2. 江苏畜牧兽医职业技术学院, 泰州 225300)

[收稿日期] 2010 - 02 - 25 [文献标识码] A [文章编号] 1002 - 1280 (2010) 05 - 0038 - 04 [中图分类号] R917

[摘要] 建立了白黄散胶囊的质量标准。用薄层色谱法鉴别白头翁、黄芪、黄连、黄柏、山楂、乌梅、诃子, 以高效液相色谱法测定盐酸小檗碱的含量。结果薄层色谱图斑点清晰, 阴性对照无干扰, 盐酸小檗碱在 9.91~148.65 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好, 加样回收率为 97.70%, RSD 为 1.30%。所建立的方法简便、准确、重现性好, 可用于白黄散胶囊的质量控制。

[关键词] 白黄散胶囊; 薄层色谱法; 盐酸小檗碱; 高效液相色谱法

Study of Quality Standard of Baihuangsan Capsules

QIU Ya-jing¹, YU Jie², YE Hui¹, CHEN Xiao-peng¹

(1. Taizhou Institute for Drug Control, Taizhou 225300; 2. Jiangsu Animal Husbandry & Veterinary College, Taizhou 225300; China)

Abstract: A quality standards was established for Baihuangsan Capsules. *Radix pulsatillae*, *Radix astragali*, *Rhizoma coptidis*, *Cortex phellodendri*, *Fructus crataegi*, *Fructus mume* and *Fructus chebulae* were identified by TLC. The content of berberine hydrochloride was determined by HPLC. The results of TLC spots were clear and negative comparison with no disturbance. The quantitative evaluation of berberine hydrochloride had the linear range of 9.91~148.65 $\mu\text{g/mL}$, the average recovery was 99.70% (RSD = 1.30%). This method is simple and accurate with high specificity and good repeatability. It is suitable for quality control of Baihuangsan Capsules.

Key words: Baihuangsan capsules; TLC; berberine hydrochloride; HPLC

白黄散胶囊是江苏畜牧兽医学院制药厂研制的新药。处方由白头翁、黄芪、黄连、黄柏、山楂、乌梅、诃子等十二味药组成, 具有清热解毒、凉血止痢之功效, 用于治疗猪痢疾。为有效控制产品质量, 采用 TLC 法对白头翁等七味中药进行了薄层定性鉴别, 采用 HPLC 法对黄连、黄柏主要成分盐酸小檗碱进行含量测定。

1 仪器与试药

1.1 仪器 Waters2695/2996/Empower 高效液相色谱系统, METTLER TOLEDO XS105 电子天平。

1.2 药品与试剂 白头翁皂苷 B₄ (批号 111766 - 200601)、黄芪甲苷对照品 (批号 110781 - 200512)、熊果酸对照品 (批号 110742 - 200313)、

没食子酸对照品 (批号 110831 - 200302)、诃子对照药材 (批号 110831 - 200302)、盐酸小檗碱对照品 (批号 110713 - 200609, 含量 98.1%), 均由中国药品生物制品检定所提供; 白黄散胶囊样品 (江苏畜牧兽医学院制药厂, 批号 091102、091110、091121); 水为超纯水, 乙腈为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

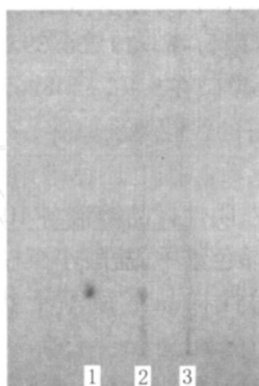
2 方法与结果

2.1 TLC 鉴别

2.1.1 白头翁的鉴别 取本品内容物 2 g, 加甲醇 20 mL, 超声处理 20 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取白头翁皂苷 B₄ 对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液,

作者简介: 仇雅静 (1974年 -), 女, 副主任中药师, 主要从事药品检验工作。E-mail: qyj067@sohu.com

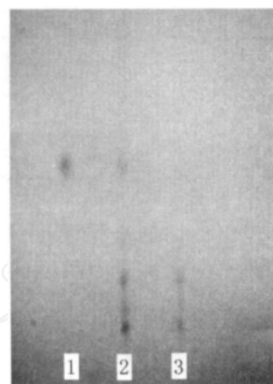
作为对照品溶液。照薄层色谱法^[1]试验,吸取上述两种溶液各 3 μL ,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷 - 甲醇 - 水 (65 : 35 : 10) 下层液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 105 $^{\circ}\text{C}$ 烘至斑点清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。阴性对照溶液则无此相应斑点。见图 1。



1 白头翁皂苷 B₄ 对照品; 2 阳性供试品; 3 缺白头翁样品
图 1 白头翁薄层色谱

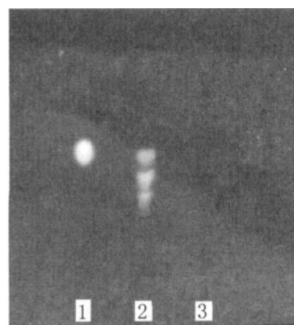
2.1.2 黄芪的鉴别 取本品内容物 10 g,加乙酸乙酯 30 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液弃去,滤渣挥干,加甲醇 30 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,加水 30 mL 使溶解,滤过,滤液用水饱和的正丁醇提取 2 次,每次 20 mL,合并正丁醇提取液,先用等体积的氨试液振摇洗涤,再用等体积的水振摇洗涤,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取黄芪甲苷对照品加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法^[1]试验,吸取供试品溶液 5 μL 、对照品溶液 2 μL ,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷 - 甲醇 - 水 (65 : 35 : 10) 下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 105 $^{\circ}\text{C}$ 烘约 10 min,日光下检视。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。阴性对照溶液则无此相应斑点。见图 2。

2.1.3 黄连、黄柏的鉴别 取本品内容物 0.5 g,加甲醇 20 mL,超声处理 20 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取盐酸小檗碱对照品,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^[1]试验,吸取上述两种溶液各 2 μL ,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正丁醇 - 冰醋酸 - 水 (7 : 1 : 2) 为展开剂,



1 黄芪甲苷对照品; 2 阳性供试品; 3 缺黄芪样品
图 2 黄芪薄层色谱

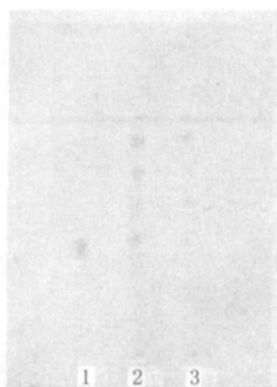
展开,取出,晾干,置紫外光灯 (365 nm) 下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。阴性对照溶液则无此相应斑点。见图 3。



1 盐酸小檗碱对照品; 2 阳性供试品; 3 缺黄连、黄柏样品
图 3 黄连、黄柏薄层色谱 (365 nm)

2.1.4 山楂、乌梅的鉴别 取本品内容物 2 g,加乙酸乙酯 20 mL,超声处理 20 min,滤过,滤液蒸干,残渣加乙酸乙酯 0.5 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取熊果酸对照品,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^[1]试验,吸取上述两种溶液各 4 μL ,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以环己烷 - 三氯甲烷 - 乙酸乙酯 - 甲酸 (20 : 5 : 8 : 1) 为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰。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。阴性对照溶液则无此相应斑点。见图 4。

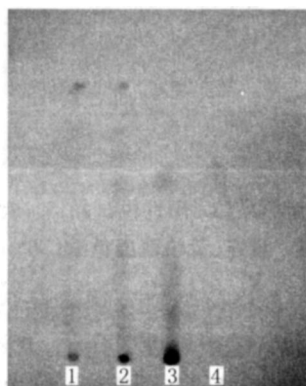
2.1.5 诃子的鉴别 取本品内容物 2 g,加乙醇 20 mL,超声处理 20 min,滤过,滤液蒸干,残渣加乙醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取诃子对照药材 1 g,同法制成对照药材溶液。再取没食子酸对



1. 熊果酸对照品; 2. 阳性供试品; 3. 缺山楂、乌梅样品

图 4 山楂、乌梅薄层色谱

照品,加乙醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液,作为对照取品溶液。照薄层色谱法^[1]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,以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲酸(6:4:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 2% 三氯化铁乙醇溶液。供试品色谱中,在与对照药材及对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。阴性对照溶液则无此相应斑点。见图 5。



1. 缺诃子样品; 2. 阳性供试品;
3. 诃子对照药材; 4. 没食子酸对照品

图 5 诃子薄层色谱

2.2 含量测定

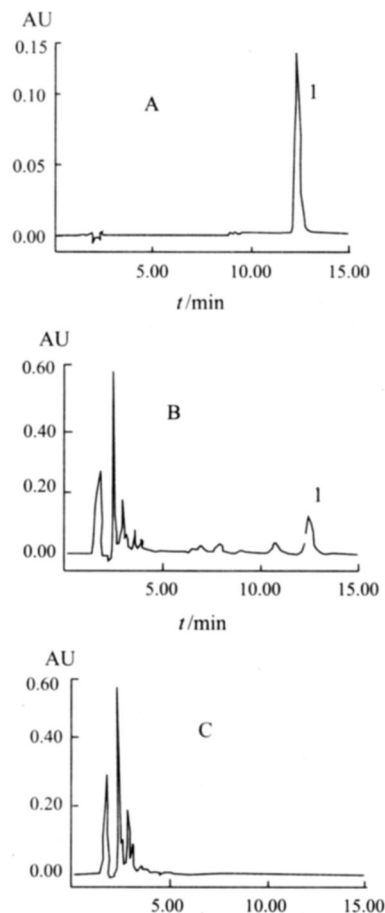
2.2.1 色谱条件 色谱柱: AQ - C₁₈ (4.6 mm $\times$ 150 mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈 - 0.033 mol/L 磷酸二氢钾溶液 (25:75); 检测波长 265 nm; 流速 1.0 mL/min; 柱温 30 $^{\circ}$ C; 进样量均为 10 μ L。

2.2.2 供试品溶液及阴性样品溶液的制备 取本品粉末约 0.4 g, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇约 20 mL, 超声处理 30 min, 冷却至室温, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。阴性样

品溶液的制备: 按处方, 同法制成不含黄连、黄柏的阴性样品溶液。

2.2.3 线性关系考察 精密称取在 105 $^{\circ}$ C 干燥 5 h 的盐酸小檗碱对照品 25.26 mg 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品贮备液。精密量取 1.0、2.5、5.0、10.0、15.0 mL 置 25 mL 量瓶中, 各加甲醇至刻度, 摇匀, 制得每 1 mL 含盐酸小檗碱 9.91、24.78、49.55、99.10、148.65 μ g 的溶液, 进样 10 μ L 测定, 以峰面积为纵坐标, 浓度为横坐标, 经线性回归, 回归方程为: $Y = 38236.39X + 1824.15$, $r = 0.9999$, 盐酸小檗碱在 9.91~148.65 μ g/mL 范围内与峰面积呈良好的线性关系。

2.2.4 干扰试验 按上述色谱条件, 取供试品溶液、对照品溶液、阴性样品溶液各 10 μ L 进样测定, 结果显示供试品色谱中, 盐酸小檗碱峰与相邻峰分离度大于 2, 阴性样品溶液不干扰测定, 结果见图 6。



A. 对照品; B. 样品; C. 阴性样品; 1. 盐酸小檗碱

图 6 HPLC 色谱图

2.2.5 精密度试验 取上述同一对照品溶液 10

μL ,连续进样 5 次,测定峰面积, RSD 为 0.5%。

2.2.6 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 10 μL ,分别于 0、2、4、6、8、10 h 各进样 1 次,测定其峰面积, RSD 为 1.26%。

2.2.7 重现性试验 精密称取同一批号的样品,按供试品溶液制备方法,依法平行试验 5 份,测定盐酸小檗碱的含量, RSD 为 1.37%。

2.2.8 加样回收率试验 分别取已知含量的样品 5 份,各精密加入一定量的盐酸小檗碱对照品,按供试品溶液制备方法制备测定,结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果

样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.7872	0.8022	1.5596	96.29		
0.7584	0.8022	1.5526	99.00		
0.8015	0.8022	1.5815	97.23	97.70	1.30
0.8082	0.8022	1.5856	96.91		
0.7765	0.8022	1.5713	99.08		

2.2.9 样品测定 精密称取不同批号的样品,按供试品溶液制备方法制备,在上述色谱条件下,进行含量测定,结果见表 2。

3 讨论

3.1 白黄散胶囊中白头翁、黄芪、黄连、黄柏、山

表 2 样品含量测定结果 ($n=3$)

批号	盐酸小檗碱含量 / ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	RSD /%
091102	3.94	1.12
091110	4.06	1.35
091121	3.81	0.83

楂、乌梅、诃子采用薄层色谱法进行定性鉴别,经反复试验,优选提取方法和展开剂。结果,色谱特征为斑点明显,专属性强,可用于该制剂的定性鉴别。

3.2 曾考察提取方法(超声、回流、浸渍),提取时间(30、40、50 min),以回流、超声提取方法提取的盐酸小檗碱含量较高,但两者含量相差不大,从操作简便角度考虑,确定提取方法为超声提取;提取时间为 30 min。另比较了提取溶剂盐酸-甲醇(1:100)和甲醇,两者含量相差不大,考虑到卤素离子对色谱柱的伤害,确定提取溶剂为甲醇。

3.3 曾采用乙腈-0.033 mol/L 磷酸二氢钾溶液(35:65)为流动相,但盐酸小檗碱峰与相邻杂质峰未达到基线分离,并有拖尾现象。使用文中流动相,结果达到基线分离,峰形较好。

参考文献:

[1] 中国药典[S].二〇〇五年版.二部.附录 31.

国家兽用药品工程技术研究中心在河南洛阳奠基

4月13日上午,由国家科技部批准依托洛阳惠中兽药有限公司组建的国家兽用药品工程技术研究中心开工奠基仪式在洛阳国家高新技术产业开发区隆重举行。

国家工程技术研究中心是在“创新、产业化”方针指引下,为促进产业研发科技发展,经科技部批准后,依托国内某一行业或领域内具有公认的技术权威性、代表行业最高技术水平的科研机构或企业组建的国家级重要创新平台。

据悉,国家兽用药品工程技术研究中心建设计划投资 6300 万元,建筑面积 13422 m^2 ,预计 2011 年底竣工。该中心建成后将致力于针对兽用原料药、高新制剂、中兽药、生物制品等方面开展关键技术研究、成果转化中的产业技术研究,同时具备承接政府、企业、院所委托的开发任务以及对外技术服务的能力,以切实提升我国兽用药品行业技术的整体创新能力和核心竞争力。

国家兽用药品工程技术研究中心的组建,将从保障畜牧业健康发展和国家兽用药品产业发展的高度,构建兽用药品关键工程技术研发平台,致力于解决兽药品种发展滞后问题,不断开发出安全高效、经济实用的新型兽药、兽用新制剂和高效疫苗,切实提高兽药产业化水平,缩短我国兽药行业与国际业界的差距。同时,与科研院所前期基础研究形成良好互补,针对我国畜禽养殖疾病防治的迫切需求充分发挥中心的辐射与扩散作用,推动兽用药品科技成果转化,为我国畜牧养殖业健康发展提供技术支撑与产品保障,从养殖用药源头促进食品安全的健康发展。

(国家兽用药品工程技术研究中心供稿)