

清热解毒片质量标准研究

Study on Quality Standard for Qingrejiedu Tablets

闫莲姣, 赵翠红, 黎 瑞, 苏桂前, 陆巧燕

YAN Lian-jiao, ZHAO Cui-hong, LI Rui, SU Gui-qian, LU Qiao-yan

(南宁市迪智药业有限责任公司, 广西南宁 530003)

(Nanning Dizhi Pharmaceutical Co. Ltd., Nanning, Guangxi, 530003, China)

摘要: 采用薄层色谱法对清热解毒片中的金银花、栀子及连翘进行定性鉴别, 采用高效液相色谱法测定黄芩中的黄芩苷含量。色谱柱为 C_{18} 柱 (4.6mm × 250mm, 5 μ m), 流动相为甲醇-0.2%磷酸水溶液 (50:50), 检测波长 276nm。鉴别项下薄层图斑清晰, 阴性对照无干扰, 专属性强; 黄芩苷含量测定方法在进样浓度 30.6~81.6 μ g/ml 内呈良好的线性关系, $r = 0.9999$, 回收率为 99.34%, $RSD = 1.83\%$ 。本方法简便准确, 重现性好, 可用于清热解毒片的质量标准。

关键词: 薄层色谱法 高效液相色谱法 清热解毒片 黄芩苷

中图分类号: O657.7 文献标识码: A 文章编号: 1002-7378(2006)S0-0475-03

Abstract: Honeysuckle, Gardenia, forsythia were identified quantitatively by TLC. Baicalin content in scullcap was determined by HPLC. HPLC was applied with a C_{18} column, and the mobile phase of methanol-0.2% phosphoric acid (50:50), and the detection wavelength was 276nm. The TLC chromatogram spots were clear and no interference was found in the negative reference. Baicalin was obtained in the range of 30.6~81.6 μ g/ml, $r = 0.9999$. The average recovery of Baicalin was 99.34%, $RSD = 1.83\%$. This method is simple, accurate and has good reproducibility, which can be used for a quality control standard of Qingrejiedu tablets.

Key words: TLC, HPLC, Qingrejiedu tablets, Baicalin

清热解毒片是《中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂》收载品种, 由金银花、玄参、地黄、连翘、栀子、甜地丁、黄芩等十二味药材加工精制而成的片剂。清热解毒片具有清热解毒功能, 用于热毒壅盛所致的发热面赤、烦躁口渴、咽喉肿痛等症, 以及流感、上呼吸道感染见上述证候者^[1]。原标准只对金银花、栀子进行薄层色谱鉴别, 无含量测定项。为了更好地控制产品质量, 有必要对清热解毒片建立较完善的、可靠的质量标准。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

日本岛津 LC-10AT 高效液相色谱仪, 日本岛津 UV-10A 紫外检测器, 威玛龙色谱工作站;

AICHROM 柱 (C_{18} , 4.6mm × 250mm, 5 μ m)。

1.2 试剂

黄芩苷对照品: 中国药品生物制品检定所提供, 批号: 110715-200212, 供含量测定用。

甲醇为色谱纯, 水为高纯水, 其他试剂均为分析纯。

清热解毒片供试品由广西玉林方特药业有限责任公司提供, 批号 20050307、20050308、20050309。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

2.1.1 金银花的薄层鉴别

取本品 3 片, 除去包衣, 研细, 加甲醇 10ml, 置水浴中加热, 振摇, 使其溶解, 放置 10min 后, 滤过, 滤液浓缩至约 5ml, 作为供试品溶液。另取绿原酸对照品, 加甲醇制成 1ml 含 1mg 的溶液, 作为对照品溶液。按照薄层色谱法^[2]试验, 吸取上述供试品溶液

5 μ l, 对照品溶液 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, 以醋酸丁酯: 甲酸: 水(7: 2.5: 2.5)的上层液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以醋酸铅试液, 置紫外灯(365nm)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, 阴性对照试验结果无干扰。详见图 1。

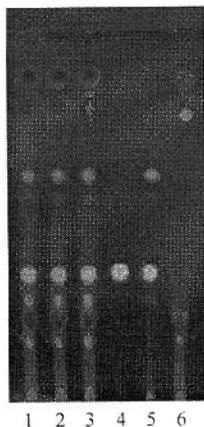


图1 清热解毒片中金银花的 TLC 鉴别

1~3. 样品; 4. 绿原酸对照品; 5. 金银花对照药材; 6. 缺金银花阴性对照。

2.1.2 栀子的薄层鉴别

取本品 3 片, 除去包衣, 研细, 加甲醇 10ml, 置水浴上加热, 振摇使其溶解, 放置 10min, 滤过, 滤液浓缩至约 2ml, 作为供试品溶液。另取栀子苷对照品, 加甲醇制成每 1ml 含 0.5mg 的溶液, 作为对照品溶液。按照薄层色谱法^[2]试验, 吸取供试品溶液 5 μ l, 对照品溶液 5~10 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, 以氯仿-甲醇(5: 1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 在 105 $^{\circ}$ 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, 阴性对照试验结果无干扰。详见图 2。

2.1.3 连翘的薄层鉴别

取本品 3 片, 除去包衣, 研细, 加甲醇 20ml, 置水浴中加热, 振摇使其溶解, 放置 10min, 滤过, 滤液浓缩至约 2 ml, 作为供试品溶液。另取连翘对照药材 0.5g, 加甲醇 20ml, 置水浴上加热回流 1 h, 滤过, 滤液浓缩至 5ml, 作为对照药材溶液。按照薄层色谱法^[2]试验, 吸取供试品溶液 5~10 μ l, 对照药材溶液 5 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, 以氯仿-甲醇(20: 1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照药材和

对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 阴性对照试验结果无干扰。详见图 3。

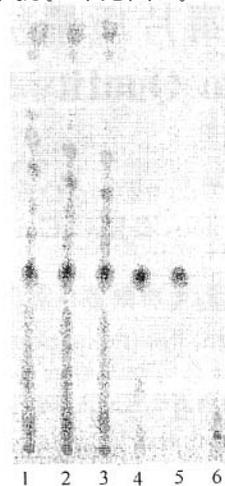


图2 清热解毒片中栀子的薄层色谱图

1~3. 样品; 4. 栀子对照药材; 5. 栀子苷对照品; 6. 缺栀子阴性对照。



图3 清热解毒片中连翘的薄层色谱图

1~3. 样品; 4. 连翘对照药材; 5. 缺连翘阴性对照。

2.2 黄芩苷含量测定

2.2.1 色谱条件

色谱柱: AICROM C₁₈ 柱(5 μ m, 4.6mm \times 250mm); 流动相: 甲醇-0.2% 磷酸水溶液(50: 50); 流速: 1.0ml/min; 检测波长: 276nm。在此条件下, 黄芩苷能达到基线分离(见图 5), 分离度 $R > 1.5$, 黄芩苷保留时间约为 8.8min, 理论塔板数按黄芩苷峰计算均在 4000 以上。

2.2.2 测定波长选择

取黄芩苷对照品适量, 分别用 50% 甲醇溶解, 在紫外分光光度计上扫描, 结果分别在 276nm 处有最大吸收。故选取黄芩苷最大吸收波长 276nm 为测

定波长。

2.2.3 对照品溶液制备

取在 60℃ 减压干燥 4 h 的黄芩苷对照品 10mg, 精密称定, 置于 10ml 容量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密吸取 0.5ml, 置于 10ml 容量瓶中, 加 50% 甲醇稀释至刻度, 制成每 1ml 含 50μg 的溶液, 即得对照品溶液。

2.2.4 供试品溶液制备

取本品 10 片, 除去包衣, 精密称定, 研细, 取 0.1g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 50ml, 密塞, 称定重量, 超声处理 20min, 放冷, 再称定重量, 用 50% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45μm)滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。

2.2.5 阴性对照品溶液制备

取缺黄芩的阴性样品 0.1g, 按供试品溶液制备项下的方法制备, 即得阴性对照品溶液。

2.2.6 干扰试验

取黄芩苷对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液按实验方法进样测定的结果表明: 阴性对照溶液色谱中, 在黄芩苷峰相应的保留时间无吸收峰(图 4、图 5、图 6), 说明处方中其它成分对测定无影响。

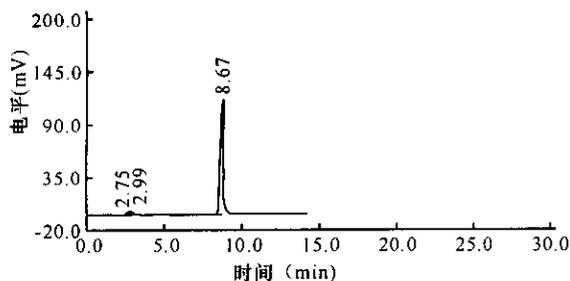


图 4 黄芩苷对照品 HPLC 色谱图

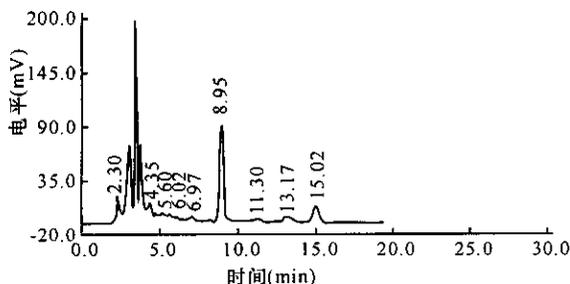


图 5 供试品溶液 HPLC 色谱图

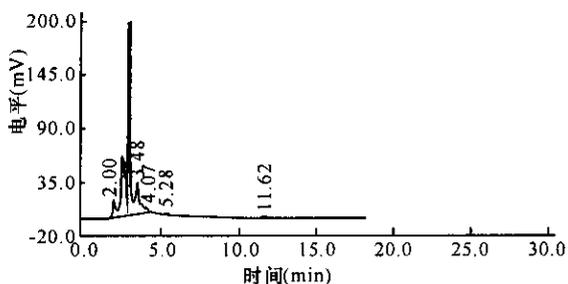


图 6 阴性对照溶液 HPLC 色谱图

2.2.7 线性关系考察

精密称取黄芩苷对照品 10.2mg, 置于 100ml 容量瓶中, 加甲醇使其溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成 102.0μg/ml 对照品溶液, 备用。分别精密吸取上述对照品溶液 3.0 ml、4.0 ml、5.0 ml、6.0 ml、7.0 ml、8.0ml, 分别置于 10ml 容量瓶中, 加 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 进样测定。以对照品进样浓度为横坐标 (X), 峰面积积分为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线, 回归方程为: $Y = 36104X - 37419$, $r = 0.9999$ 。黄芩苷在进样浓度为 30.6~81.6μg/ml 时, 进样浓度与黄芩苷峰面积呈良好的线性关系。

2.2.8 精密度试验

取同一对照品溶液和同一供试品溶液, 按实验的色谱条件连续测定 6 次, 记录黄芩苷峰面积。结果是对照品溶液中黄芩苷的平均峰面积为 1810614, RSD 为 0.47%, 供试品溶液中黄芩苷的平均峰面积为 1461702, RSD 为 1.53%。说明本法的精密度较好。

2.2.9 稳定性考察

取同一供试品, 每隔一定时间测定 1 次, 共测定 6 次。结果是 6 次测定制剂中黄芩苷峰面积的平均值为 1557980, RSD 为 1.13% ($n = 6$), 供试品在 10 h 内测定稳定。

2.2.10 重现性试验

取同一批样品, 按实验方法平行测定 6 份的结果显示, 制剂中黄芩苷含量平均值为 22.09mg/g, RSD 为 1.12% ($n = 6$)。本方法的重现性较好。

2.2.11 加样回收率试验

取已知含量样品, 除去包衣, 研细, 取 0.05g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 加入黄芩苷对照品溶液 1.02mg/ml (精密称取黄芩苷对照品 10.20mg, 置于 10ml 容量瓶中, 加甲醇使其溶解并稀释至刻度, 即得) 1.0ml, 精密加入 50% 甲醇 50ml, 密塞, 称定重量, 超声处理 20min, 放冷, 再称定重量, 用 50% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45μm)滤过, 取续滤液, 测定, 计算回收率, 结果平均回收率为 99.34%, $RSD = 1.83%$ ($n = 6$)。

2.2.12 样品测定

分别取不同批号样品 10 片, 除去包衣, 按 2.2.4 项下方法制备得供试品溶液。分别精密吸取供试品溶液与对照品溶液各 10μl, 注入液相色谱仪进行测定。3 批样品中黄芩苷的含量结果见表 1。

(下转第 486 页)

- [19] 黄赵刚,李绍平,李俊,等.反相法测定莪术油葡萄糖注射液中莪术醇和吉马酮的含量[J].中成药,2005,27(10):1141-1143.
- [20] 许东晖,王胜,金晶,等.姜黄素的药理作用研究进展[J].中草药,2005,36(11):1737-1740.
- [21] 王琰,胡文言,王慕邹.HPLC法测定中药莪术中3种姜黄素的含量[J].药学学报,1999,34(6):467-470.
- [22] 戚爱棣,于虹,朱晨.薄层扫描法测定姜黄、郁金、莪术中姜黄素的含量[J].天津中医学院学报,2002,21(2):32-33.
- [23] 孙树英,王洪存,王磊.莪术中微量元素的测定[J].泰山医学院学报,1997,18(1):11-13.
- [24] 石灵春,汪波,吴万垠,等.莪术油对小鼠肝癌细胞抑制作用的分子机理[J].中药药理与临床,2002,18(1)6-7.
- [25] 汪伟民,汪波,刘荣玉,等.中药莪术油对小鼠 Lewis 肺癌抑制作用的实验研究[J].中国中医药科技,2003,10(6):353-354.
- [26] 李林,陆免林,卞慧敏,等.莪术活血化瘀有效物质研究[J].上海中医药大学学报,2004,18(3):40-42.
- [27] 魏玉平,骆志成.莪术挥发油体外抗念珠菌活性的研究[J].中国麻风皮肤病杂志,2005,21(7):524-526.
- [28] 夏泉,黄赵刚,李绍平,等.莪术油抗流感病毒和呼吸道合胞病毒作用的实验研究[J].中国药理学通报,2004,20(3):357-358.
- [29] 薄芯,杜明莹,戎梅,沙参,砂仁、猪苓、莪术和鸡血藤对环磷酰胺毒副反应影响的实验研究[J].中国中医药科技,1997,4(3):153-156.
- [30] 卜长武,王东荣,郭文来,等.莪术对小白鼠免疫功能的影响[J].中国中医药信息杂志,1997,4(2):29.
- [31] 王汉平,毛平,许艳丽,等.莪术注射液抑制 K562 细胞增殖及诱导其凋亡的研究[J].浙江中西医结合杂志,2000,10(7):386-389.
- [32] 王砚,赵小京.莪术油抗癫痫作用的实验研究[J].中药药理与临床,2004,20(3):11-12.
- [33] 陈志强,代睿欣,常钢,等.中药莪术油及鸦胆子油经血管介入实验动物前列腺的研究[J].广州中医药大学学报,2004,21(1):53-55.
- [34] 李应东,李啸红,王毓美.中药莪术拮抗致突变作用的初步研究[J].中国优生与遗传杂志,1999,7(1):22-24.
- [35] 李莲姬,韩春姬,崔山田,等.莪术对老年小鼠学习记忆与脂质过氧化作用的影响[J].中药材,1998,21(10):522-523.
- [36] 魏兰福,邹百仓,魏睦新.莪术对大鼠胃动力影响的实验研究[J].湖南中医杂志,2003,19(3):58-59.
- [37] 冉萍,刘彬.莪术油葡萄糖注射液在儿科的应用[J].儿科药学杂志,2005,11(1):53-55.
- [38] 张辉,杨卫民.莪术油滴眼液的制备及临床应用[J].西北药学杂志,2000,15(4):168.
- [39] 宋智琦,林熙然.外用莪术油霜剂治疗银屑病.中华皮肤科杂志,1998,31(2):124.
- [40] DENG RONG, CHEN JIMIN, GAO SHENGCHUAN. In vitro drug release characteristics of gelatin microsphere containing zedoary turmeric oil for hepatic arterial embolization [J]. Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences, 2000, 9(3):146.
- [41] 邓嵘,陈济民,吴万垠.肝动脉灌注莪术油明胶微球对荷瘤大鼠的抗癌活性[J].沈阳药科大学学报,2000,17(3):197.
- [42] 王勤,戈升荣,柳晨.莪术油制剂的研究与临床应用进展[J].中药材,2002,25(10):763-764.
- [43] 王丽君,张伟,卿可光.莪术油- β -环糊精包合物的制备工艺及稳定性考察[J].中草药,2001,32(4):314.

(上接第 477 页)

表 1 样品中黄芩苷含量测定结果

样品批号	含量(毫克/片)			相对平均 偏差(%)
	1	2	平均值	
20050307	6.66	6.57	6.62	1.28
20050308	7.32	7.25	7.29	0.48
20050309	7.04	7.21	7.13	1.19

3 结束语

清热解片为《中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂》收载药品品种,为更好的控制产品的质量,我们在原标准基础上,采用薄层色谱法对清热解片中所有药味进行薄层色谱鉴别研究,修订

了金银花、栀子的薄层色谱鉴别方法,并增加连翘的薄层色谱鉴别方法。方法的专属性较强,阴性对照无干扰。我们还建立了制剂中黄芩所含有效成分黄芩苷的含量测定方法。方法快速准确、方便可行,专属性、重现性、回收率良好,为清热解片的质量控制提供了良好的方法。本次试验拟定的质量标准较完善,可以用于产品质量进行控制。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂第 20 册[S].1998:319.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典 2005 年版(一部)[M].北京:化学工业出版社,2005:附录 VI B.