

## 洽克库特颗粒的质量标准

蔡晓翠, 康雨彤, 严欢, 戎小娟, 毛艳, 王新堂, 贺金华\*, 孙玉华  
(新疆维吾尔自治区药物研究所, 乌鲁木齐 830004)

**[摘要]** **目的:**建立洽克库特颗粒的质量标准。**方法:**采用薄层色谱法(TLC)定性鉴别洽克库特颗粒中的王不留行及关黄柏;采用高效液相色谱法测定制剂中王不留行黄酮苷、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀及甘草酸的含量。**结果:**王不留行、关黄柏的 TLC 图谱斑点清晰、重复性好、专属性强、方法简便,阴性对照均无干扰。王不留行黄酮苷在  $7.204\ 0 \sim 108.059\ 3\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $r=0.999\ 5$ )与峰面积呈良好的线性关系,平均加样回收率为 98.95%,RSD 2.2%;盐酸小檗碱在  $20.432\ 7 \sim 408.654\ 4\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $r=0.999\ 6$ )与峰面积呈良好的线性关系,平均加样回收率为 101.83%,RSD 1.6%;盐酸巴马汀在  $12.109\ 1 \sim 242.182\ 1\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $r=0.999\ 5$ )与峰面积呈良好的线性关系,平均加样回收率为 98.24%,RSD 1.1%;甘草酸铵进样浓度在  $0.061\ 08 \sim 0.407\ 2\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $r=0.999\ 5$ )与峰面积呈良好的线性关系,平均加样回收率为 100.10%,RSD 0.8%;4 个指标测定的精密度、重复性、稳定性、中间精密度试验 RSD 均 <2%。**结论:**所建标准可用于洽克库特颗粒的质量控制。

**[关键词]** 洽克库特颗粒;薄层法;高效液相色谱法;质量标准

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)24-0047-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014240047

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20141106.1458.020.html>

**[网络出版时间]** 2014-11-06 14:58

## Quality Standards of Qiakেকেute Granules

CAI Xiao-cui, KANG Yu-tong, YAN Huan, RONG Xiao-juan, MAO Yan,  
WANG Xin-tang, HE Jin-hua\*, SUN Yu-hua  
(Xinjiang Institute of Material Medica, Urumqi 830004, China)

**[Abstract]** **Objective:** The study aimed to establish the quality standards of Qiakেকেute granular. **Method:** Phellodendri Amurensis Cortex and Vaccariae Semen were identified by TLC. The contents of vaccarin, berberine hydro-chlorid, palmatine hydrochloride and ammonium glycyrrhizinate were determined by HPLC. **Result:** The TLC spots were clear and specific in good repeatability without inference from negative sample. The linear range of vaccarin was  $7.204\ 0\text{-}108.059\ 3\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $r = 0.999\ 5$ ) with an average recovery of 98.95% (RSD 2.2%). The linear range of berberine hydrochloride was  $20.432\ 7\text{-}408.654\ 4\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $r = 0.999\ 6$ ) with an average recovery of 101.83% (RSD 1.6%). The linear range of palmatine hydrochloride was  $12.109\ 1\text{-}242.182\ 1\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $r = 0.999\ 5$ ) with an average recovery of 98.24% (RSD 1.1%). The linear range of ammonium glycyrrhizinate was  $0.061\ 08\text{-}0.407\ 2\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $r = 0.999\ 5$ ) with an average recovery of 100.10% (RSD 0.8%). The RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 2%. **Conclusion:** The standard established in this study can be used for the quality control of Qiakেকেute granular.

**[Key words]** Qiakেকেute granules; TLC; HPLC; quality standards

“洽克库特”原方为汤剂,原剂型由于历史条件的限制,存在诸多缺陷,主要表现在生产工艺落后、

**[收稿日期]** 20140311(012)

**[基金项目]** 新疆维吾尔自治区重大科技专项(201130105-4)

**[第一作者]** 蔡晓翠, 实习研究员, 从事药物分析及质量标准研究, Tel:15292855180, E-mail:cxcmro@sina.com

**[通讯作者]** \* 贺金华, 研究员, 硕士, 从事天然药物化学及药物分析研究, Tel:0991-2326572, E-mail:3182410@qq.com

服用量大、携带不便、不易储存等、不符合“三效、三小、五方便”的要求。该制剂主要用于治疗前列腺炎,由于该病的疗程长,因此改变剂型为颗粒剂,便于患者使用、携带和贮存。洽克库特颗粒是由关黄柏、王不留行、车前子、熟地黄、苘麻子、茯苓、甘草 7 味药材组成,具有清热利湿、活血通溺、补虚导浊的功效,主要用于脾肾两虚、湿热瘀阻所致慢性非细菌性前列腺炎,症见尿频、尿急、尿痛、尿浊、腰骶疼痛、会阴坠胀疼痛、神疲、失眠、遗精、舌质红、苔黄白腻、脉滑细数等症状。为建立其质量控制方法,保证临床疗效,本实验采用薄层色谱法对方剂中王不留行、关黄柏进行定性鉴别,采用高效液相色谱法测定制剂中的王不留行黄酮苷、盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、甘草酸的含量。可为有效控制洽克库特颗粒的质量提供实验依据。

## 1 材料

**1.1 仪器** LC 2010C 型高效液相色谱仪(日本岛津),BP211D 型电子分析天平(Sartorius,0.01 mg),YOKO-ZS 型紫外线分析摄影仪(武汉药科公司)。

**1.2 药品和试剂** 盐酸巴马汀(批号 110732-200907,含量测定按 86.1% 计)、盐酸小檗碱(批号 110713-200911,含量测定按 86.8% 计)、王不留行黄酮苷(批号 111853-201001,含量测定按 91.7% 计)、甘草酸铵(批号 110731-20061,含量测定用)对照品,关黄柏对照药材(批号 120937-201007)、王不留行对照药材(批号 120904-200914),均购于中国食品药品检定研究院。

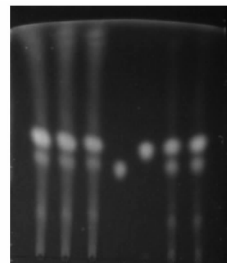
洽克库特颗粒(规格 8.0 mg/袋,新疆西部加斯特药业有限公司制备,批号 20110617,20110621,20110624),甲醇为色谱纯(美国 Fisher),其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

**2.1 洽克库特颗粒的制备** 熟地黄粉碎成最粗粉,车前子粉碎成粗粉,甘草为饮片,备用。关黄柏加 8 倍量 75% 乙醇回流提取 3 次,每次 1.0 h,滤过,合并滤液,减压浓缩为清膏,备用。车前子、熟地黄、王不留行加 8 倍量 60% 乙醇回流提取 2 次,每次 1.5 h,滤过,合并滤液,减压浓缩为清膏,备用。车前子、熟地黄、王不留行醇提药渣与茯苓、苘麻子、甘草混合,加 8 倍量水煎煮 2 次,每次 1.5 h,滤过,合并滤液,浓缩为清膏,与上述两种醇提清膏合并,混匀,真空干燥,与乳糖适量混匀,制粒,整粒,制成 1 000 g,即得。

## 2.2 薄层色谱鉴别

**2.2.1 关黄柏的鉴别**<sup>[1-5]</sup> 取本品 2.0 g,加甲醇 20 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液浓缩至约 2 mL,作为供试品溶液。另取盐酸巴马汀、盐酸小檗碱对照品适量,分别加甲醇制成每 1 mL 各含 0.10,0.16 mg 的溶液,作为对照品溶液。再取关黄柏对照药材 0.5 g,同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B)试验,吸取上述 4 种溶液各 10  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以苯-乙酸乙酯-异丙醇-甲醇-浓氨试液(3:6:1.5:3:1)(氨蒸气饱和)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材和对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。见图 1。



1 2 3 4 5 6 7

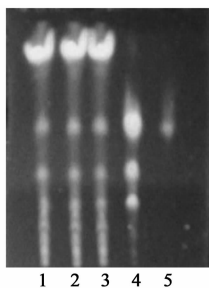
1,2,3. 供试品;4. 盐酸小檗碱对照品;  
5. 盐酸巴马汀对照品;6,7. 关黄柏对照药材

图 1 关黄柏的 TLC

**2.2.2 王不留行的鉴别**<sup>[1,2-13]</sup> 取本品 2.0 g,加 70% 甲醇 20 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液作为供试品溶液。另取王不留行黄酮苷适量,加甲醇制成每 1 mL 含 1.0 mg 的溶液,作为对照品溶液。再取王不留行对照药材 0.5 g,同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B)试验,吸取上述 3 种溶液各 5  $\mu$ L,分别点于同一聚酰胺薄膜板上,以甲醇-水(4:6)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 2% 三氯化铝乙醇溶液,晾干,放置 10 min,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱和对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。见图 2。

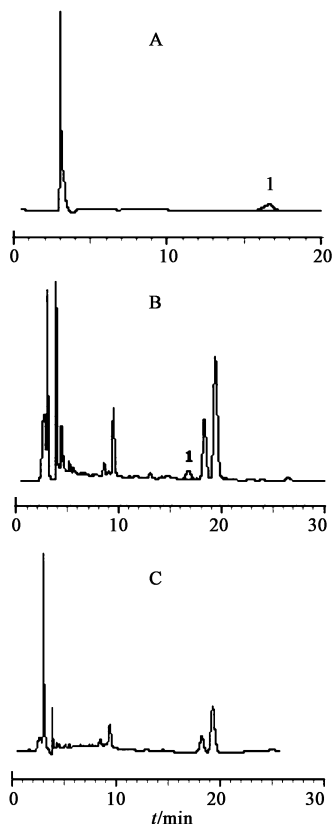
**2.3 王不留行黄酮苷的含量测定**<sup>[1,14]</sup>

**2.3.1 色谱条件与系统适用性试验** Cosmosil-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu$ m),流动相乙腈-0.03% 磷酸水溶液(加入磷酸二氢钾使其达到 0.02 mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup>)(12.1:87.9),检测波长 337 nm,流速 1 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>,柱温 30  $^{\circ}$ C。理论板数按王不留行黄酮苷峰计算不低于 4 000。见图 3。



1,2,3. 供试品;4. 王不留行对照药材;5. 王不留行黄酮苷对照品

图2 王不留行 TLC



A. 对照品;B. 供试品;C. 阴性对照;1. 王不留行黄酮苷

图3 洽克库特颗粒中王不留行黄酮苷高效液相色谱

**2.3.2 对照品溶液的制备** 精密称取王不留行黄酮苷对照品 9.82 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成每 1 mL 含王不留行黄酮苷 0.360 2 mg 的对照品贮备液。

**2.3.3 供试品溶液的制备** 取装量差异下的本品, 研细, 取约 5.0 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加 50% 乙醇约 30 mL, 超声处理(功率 250 W, 频率 50 kHz)30 min, 放冷, 加 50% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 离心, 取上清液, 滤过, 取续滤液, 即得。

**2.3.4 线性关系考察** 分别精密吸取上述对照品贮备液 0.2, 0.3, 0.5, 0.7, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0 mL 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 制得系列浓度

的对照品溶液。精密吸取上述溶液各 20  $\mu$ L 注入液相色谱仪, 依法测定王不留行黄酮苷峰面积。以对照品进样浓度为横坐标(X), 峰面积为纵坐标(Y), 绘制标准曲线, 得回归方程为  $Y = 38\ 886X - 38\ 718$  ( $r = 0.999\ 5$ )。结果表明王不留行黄酮苷在 7.204 ~ 108.059  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  与峰面积线性关系良好。

**2.3.5 精密度试验** 取同一对照品溶液, 连续进样 6 次, 按上述色谱条件测定, 记录峰面积。结果 RSD 2.0%, 表明仪器精密度良好。

**2.3.6 重复性试验** 取同一批(批号 20110617)制剂粉末适量, 共 6 份, 精密称定, 分别按 2.3.3 项下方法制备供试品溶液, 按上述色谱条件测定, 记录峰面积。结果每 1 g 样品平均含王不留行黄酮苷为 252.91  $\mu$ g, RSD 1.4%, 表明本方法重复性良好。

**2.3.7 稳定性试验** 取同一批供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 依法测定, 记录峰面积。结果 RSD 2.2%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.3.8 加样回收率试验** 取已知含量的供试品(批号 20110617)约 2.5 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 共 6 份, 分别精密加入王不留行黄酮苷对照品储备液 2.2 mL, 按 2.3.3 项下方法制备供试品溶液, 依法测定, 计算回收率, 结果见表 1。

表1 洽克库特颗粒中王不留行黄酮苷加样回收率试验

样品中量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.765 9	1.529 0	96.29		
0.780 4	1.577 7	100.62		
0.777 2	1.579 0	101.17		
0.769 0	1.536 4	96.83	98.95	2.2
0.785 5	1.584 3	100.81		
0.765 9	1.542 3	97.98		

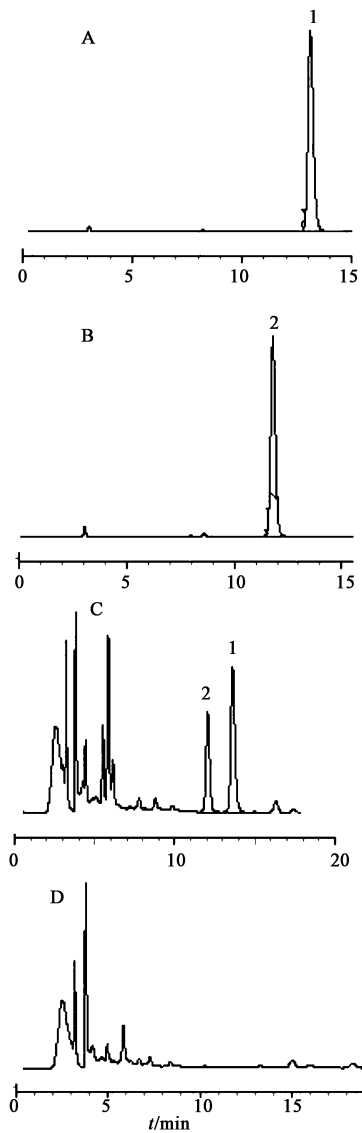
注: 加入量均为 0.792 4 mg。

**2.3.9 样品测定** 取 3 批洽克库特颗粒各适量, 分别按 2.3.3 项下方法制备供试品溶液, 按上述色谱条件测定, 计算样品中王不留行黄酮苷的含量分别为 2.90, 2.77, 3.13 mg/袋。

**2.4 盐酸小檗碱和盐酸巴马汀的含量测定**<sup>[1,15-17]</sup>

**2.4.1 色谱条件与系统适用性试验** Cosmosil-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu$ m), 流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液(加入磷酸二氢钾使其达到 0.02 mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup>)(23:77), 检测波长 345 nm, 流速 1.0 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>, 柱温 30  $^{\circ}$ C, 进样量 5  $\mu$ L。理论板数按盐酸小檗碱峰计算不低于 11 000。色谱分离结果

见图4。



A, B. 对照品; C. 供试品; D. 阴性样品;

1. 盐酸小檗碱; 2. 盐酸巴马汀

图4 洽克库特颗粒 HPLC

**2.4.2 对照品溶液的制备** 分别精密称取盐酸小檗碱、盐酸巴马汀对照品 11.77, 11.72 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成每 1 mL 各含 0.470 8, 0.468 8 mg 的溶液, 作为对照品贮备液。

**2.4.3 供试品溶液的制备** 取装量差异下的本品, 研细, 取约 3.0 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加入 70% 乙醇约 30 mL, 超声处理(功率 250 W, 频率 50 kHz) 15 min, 放冷, 加 70% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 离心, 取上清液, 滤过, 取续滤液, 即得。

**2.4.4 线性关系考察** 分别精密吸取上述盐酸小檗碱对照品贮备液 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 5.0, 7.0,

10.0 mL 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 制得系列浓度的盐酸小檗碱对照品溶液; 再分别精密吸取上述盐酸巴马汀对照品贮备液 0.3, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 4.0, 6.0 mL 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 制得系列浓度的盐酸巴马汀对照品溶液。精密吸取上述溶液各 5  $\mu$ L 注入液相色谱仪, 依法测定, 记录峰面积。以对照品进样浓度为横坐标(X), 峰面积为纵坐标(Y), 绘制标准曲线, 得盐酸小檗碱和盐酸巴马汀的回归方程分别为  $Y = 21\ 899X + 16\ 278$  ( $r = 0.999\ 6$ ),  $Y = 23\ 231X - 653.33$  ( $r = 0.999\ 6$ )。结果表明, 盐酸小檗碱和盐酸巴马汀分别在 20.432 7 ~ 408.654 4, 12.109 1 ~ 242.182 1  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  与各自峰面积线性关系良好。

**2.4.5 精密度试验** 取同一对照品溶液, 连续进样 6 次, 按上述色谱条件测定, 记录峰面积。结果盐酸小檗碱和盐酸巴马汀的 RSD 分别为 0.5%, 0.6%, 表明仪器精密度良好。

**2.4.6 重复性试验** 取同一批(批号 20110617)制剂粉末适量, 共 6 份, 精密称定, 分别按 2.3.3 项下方法制备供试品溶液, 按上述色谱条件测定, 记录峰面积。结果样品平均含盐酸小檗碱 1.63  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 盐酸巴马汀 0.95  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , RSD 分别为 1.4%, 1.0%, 表明本方法重复性良好。

**2.4.7 稳定性试验** 取同一批供试品溶液, 分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 依法测定, 记录峰面积。结果 RSD 分别为 0.6%, 0.8%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.4.8 加样回收率试验** 取已知含量的供试品(批号 20110617)约 1.5 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 共 6 份, 分别精密加入盐酸小檗碱和盐酸巴马汀对照品储备液 4.0 mL, 按 2.4.3 项下方法制备供试品溶液, 依法测定, 计算回收率, 结果见表 3, 4。

**2.4.9 样品测定** 取 3 批洽克库特颗粒各适量, 分别按 2.4.3 项下方法制备供试品溶液, 按上述色谱条件测定, 记录峰面积, 以峰面积计算, 结果样品中盐酸小檗碱与盐酸巴马汀的含量, 结果见表 5。

## 2.5 甘草酸的含量测定<sup>[1, 18-20]</sup>

**2.5.1 色谱条件与系统适用性试验** Cosmosil-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu$ m), 流动相乙腈-0.05% 磷酸溶液(31:69), 检测波长 247 nm, 流速 1.0  $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ , 进样量 10  $\mu$ L。理论板数按甘草酸峰计算不低于 13 000。见图 5。

**2.5.2 对照品溶液的制备** 精密称取甘草酸铵对照品 10.18 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀

表3 洽克库特颗粒中盐酸小檗碱的加样回收率试验

样品中量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
2.777 5	5.841 2	102.37		
2.762 6	5.783 4	100.94		
2.771 4	5.875 0	103.70		
2.785 2	5.831 8	101.80	101.83	1.6
2.773 2	5.859 5	103.12		
2.773 3	5.737 9	99.06		

注:加入量均为 2.992 9 mg。

表4 洽克库特颗粒中盐酸巴马汀的加样回收率试验

样品中量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1.630 7	3.193 1	97.77		
1.631 0	3.185 7	97.29		
1.630 7	3.223 5	99.67		
1.630 8	3.220 3	99.47	98.24	1.1
1.630 7	3.187 7	97.43		
1.630 8	3.193 4	97.79		

注:加入量均为 1.598 0 mg。

表5 洽克库特颗粒样品中2种成分含量测定( $n=3$ ) mg/袋

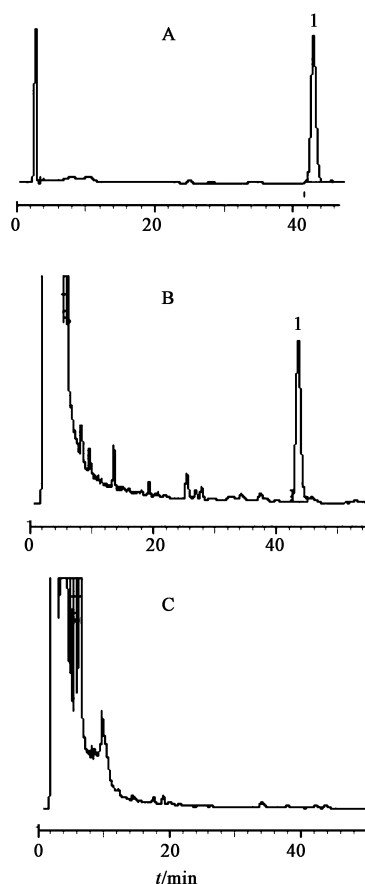
批号	盐酸小檗碱		盐酸小檗碱和 盐酸巴马汀总量
	盐酸小檗碱	盐酸巴马汀	
20110617	15.92	9.21	25.13
20110621	15.22	8.92	24.14
20110624	15.36	8.95	24.31

释至刻度,摇匀,制成每 1 mL 含 1.018 mg 的溶液,作为对照品贮备液。(甘草酸质量 = 甘草酸铵质量/1.0207)

**2.5.3 供试品溶液的制备** 取装量差异下的本品,研细,取约 4.0 g,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加入 50% 乙醇约 30 mL,超声处理(功率 250 W,频率 50 kHz)30 min,放冷,加 50% 乙醇稀释至刻度,摇匀,离心,取上清液,滤过,取续滤液,即得。

**2.5.4 线性关系考察** 分别精密吸取上述对照品贮备液 0.3, 0.5, 1.0, 1.25, 1.5, 2.0 mL 置 5 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,制得系列浓度的对照品溶液。精密吸取上述溶液各 10  $\mu$ L 注入液相色谱仪,依法测定甘草酸铵峰面积。以对照品进样浓度为横坐标( $X$ ),峰面积为纵坐标( $Y$ ),绘制标准曲线,得回归方程  $Y = 6.86 \times 10^6 X + 5.27 \times 10^4$ ,  $r = 0.9997$ 。结果表明甘草酸铵在 0.061 08 ~ 0.407 2  $g \cdot L^{-1}$  与峰面积线性关系良好。

**2.5.5 精密度试验** 取同一对照品溶液,连续进样 6 次,按上述色谱条件测定,记录峰面积。结果 RSD



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性样品; 1. 甘草酸铵

图5 洽克库特颗粒中甘草酸铵 HPLC

1.7%,表明仪器精密度良好。

**2.5.6 重复性试验** 取同一批(批号 20110617)制剂粉末适量,共 6 份,精密称定,分别按 2.5.3 项下方法制备供试品溶液,按上述色谱条件测定,记录峰面积。结果样品平均含甘草酸铵  $3.30 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , RSD 0.4%,表明本方法重复性良好。

**2.5.7 稳定性试验** 取同一批供试品溶液,分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 依法测定,记录峰面积。结果 RSD 1.1%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.5.8 加样回收率试验** 取已知含量的供试品(批号 20110617)约 2.0 g,精密称定,置 50 mL 量瓶中,共 6 份,分别精密加入甘草酸铵对照品储备液(每 1 mL 含甘草酸铵 0.954 0 mg)8.0 mL,按 2.5.3 项下方法制备供试品溶液,依法测定,计算回收率,结果见表 6。

**2.5.9 样品测定** 取 3 批洽克库特颗粒各适量,分别按 2.5.3 项下方法制备供试品溶液,按上述色谱条件测定,记录峰面积,以峰面积计算,结果样品中甘草酸的含量分别为 25.70, 25.87, 26.59 mg/袋。

表 6 洽克库特颗粒中甘草酸铵加样回收率试验

样品中量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
6.633 4	14.252 0	99.82		
6.580 9	14.307 4	101.24		
6.850 8	14.419 0	99.16		
6.600 8	14.220 7	99.84	100.10	0.8
6.563 4	14.168 0	99.64		
6.741 5	14.440 9	100.88		

注:加入量均为 7.632 0 mg。

### 3 讨论

**3.1 薄层鉴别条件筛选** 采用《中国药典》方法时盐酸小檗碱与盐酸巴马汀斑点未分开,笔者建立的方法二者斑点分离度佳、圆整,阴性无干扰。对方中王不留行的薄层鉴别条件摸索时发现,2%三氯化铝乙醇溶液显色后,放置时间过短时,斑点不清晰、颜色较淡;改为放置 10 min 后,斑点颜色明亮、清晰。

**3.2 检测波长的选择** 通过紫外分光光度法对王不留行黄酮苷对照品溶液、甘草酸铵对照品溶液在 200~800 nm 波长进行扫描,结果发现其最大吸收波长分别为 337,247 nm;《中国药典》中规定王不留行黄酮苷吸收波长为 280 nm,经实验测定王不留行黄酮苷在 337 nm 下,吸收值较大,峰形佳,而在 280 nm 下,杂质峰较多,分离不佳,因此确定采用 337 nm 作为检测波长;《中国药典》中规定其吸收波长为 237 nm,经实验测定甘草酸铵在 247 nm 下,吸收值较大,峰形佳,因此确定采用 247 nm 作为检测波长。

**3.3 流动相的选择** 在王不留行黄酮苷含量测定预试验中分别以甲醇-0.5%冰醋酸水溶液、甲醇-0.3%磷酸水溶液、乙腈-0.3%磷酸水溶液、乙腈-0.03%磷酸水溶液、乙腈-0.03%磷酸水溶液(加入磷酸二氢钾使其达到 0.02 mol·L<sup>-1</sup>)为流动相系统,进行流动相的选择,结果发现采用乙腈-0.03%磷酸水溶液(加入磷酸二氢钾使其达到 0.02 mol·L<sup>-1</sup>)时,王不留行黄酮苷的峰形、分离度都较好,流动相酸度适中,从保护色谱柱及仪器的角度考虑,选择其作为流动相。

本实验建立了定性鉴别洽克库特颗粒中关黄柏、王不留行的 TLC 法,特征斑点明显,分离度佳,阴性对照无干扰;并建立了 4 个指标的含量测定方法,精密度、重复性、稳定性均符合 2010 年版《中国药典》要求,所见标准可用于洽克库特颗粒的质量控制。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010.
- [2] 姚民惠. 补肾丸中枸杞子与关黄柏的 TLC 鉴别研究[J]. 中国中医药资讯,2010,2(11):251.
- [3] 黄若干,宾祖焕,梁峰,等. 癣灵酊质量标准的研究[J]. 广西医学,2007,29(11):1745.
- [4] 赫玉芳,南敏伦,刘静月,等. 绒草清带片质量标准研究[J]. 药物分析杂志,2007,27(8):1186.
- [5] 张克,毛媛,王艳玲,等. 妇科止带片中椿皮和黄柏的薄层色谱鉴别[J]. 陕西中医,2009,30(5):607.
- [6] 魏生杰,翁腾腾. 薄层色谱法鉴别乳块消丹中王不留行等 3 味药材[J]. 海峡药学,2010,22(10):83.
- [7] 蒋俊春,杨文文. 消石胶囊中王不留行的薄层色谱鉴别方法[J]. 临床医学,2010,23(7):36.
- [8] 黄罗生,王娜. 调神攻坚颗粒中王不留行的薄层色谱鉴别[J]. 海峡药学,2008,20(9):36.
- [9] 兰燕宇,王爱民,王永林,等. 前列倍喜胶囊定性定量方法的研究[J]. 中国中药杂志,2003,28(6):513.
- [10] 姚佳丽,蒋万浪,沈克拉. 安中片质量标准研究[J]. 药物鉴定,2004,13(5):36.
- [11] 蔡晓翠,贺金华,李维强,等. 芩榆烧伤液质量控制[J]. 医药导报,2011,30(11):95.
- [12] 康雨彤,贺金华,毛艳,等. 正交试验优选芩榆烧伤凝胶中黄芩、关黄柏、地榆的提取工艺[J]. 中国药房,2013,24(27):2532.
- [13] 孟贺,陈玉平,秦文杰,等. 王不留行中王不留行黄酮苷的分离与鉴定[J]. 中草药,2011,42(5):874.
- [14] 孟贺,陈玉平,秦文杰,等. HPLC 测定王不留行中王不留行黄酮苷的含量[J]. 中草药,2010,35(16):2072.
- [15] 吴杨,吕雄文,毛名扬,等. HPLC 法测定干黄燥湿洗液中盐酸小檗碱和甘草酸铵的含量[J]. 安徽医药,2009,13(4):384.
- [16] 唐艳梅,叶萌,向丽,等. HPLC 测定黄柏中的盐酸小檗碱、盐酸巴马汀和盐酸药根碱[J]. 华西药学杂志,2006,21(3):265.
- [17] 邓六勤,钟鸣. RP-HPLC 法测定黄连上清片中盐酸小檗碱、盐酸药根碱和盐酸巴马汀的含量[J]. 中国药房,2011,22(16):1514.
- [18] 刘红文. 六味甘草丸中甘草苷的鉴别和含量测定[J]. 陕西中医,2010,31(3):353.
- [19] 康雨彤,贺金华,毛艳,等. 芩榆烧伤凝胶制备工艺优选[J]. 医药导报,2013,2(8):1085.
- [20] 陈云华,赵晓霞,王文全,等. 高效液相色谱法同时测定甘草中甘草酸、甘草苷、异甘草素的含量[J]. 中国中医药信息杂志,2009,16(8):53.

[责任编辑 顾雪竹]