

培土清心颗粒质量标准研究

薛素琴¹, 陈达灿^{1*}, 谭志灿², 刘俊峰¹, 莫秀梅¹

(1. 广东省中医院, 广州 510120; 2. 广东省中医研究所, 广州 510095)

[摘要] **目的:** 建立培土清心颗粒的质量标准。**方法:** 采用高效液相色谱法测定处方中连翘苷的含量。以依利特 Hypersil ODS2 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 柱为色谱柱, 柱温 25 °C, 以乙腈-水 (25:75) 为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 277 nm。**结果:** 白茅根、连翘、白鲜皮和甘草分离度好, 阴性对照无干扰; 连翘苷在 0.179~4.29 μg 线性关系良好, 其回归方程 $Y = 7316.648X - 2807.941$ ($r = 0.99997$), 加样回收率为 100.67%, RSD 1.03% ($n = 9$)。**结论:** 该方法简便、准确、重复性好, 可作为培土清心颗粒的质量控制方法。

[关键词] 培土清心颗粒; 质量标准; 高效液相色谱; 连翘苷

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)16-0070-03

[doi] 10.11653/syfy2013160070

Study on Quality Standard of Peitu Qingxin Granules

XUE Su-qin¹, CHEN Da-can^{1*}, TAN Zhi-can², LIU Jun-feng¹, MOU Xiu-mei¹

(1. Guangdong Provincial Hospital of Chinese Medicine, Guangzhou 510120, China;

2. Guangdong Provincial Institute of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510095, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the quality standard of Peitu Qingxin granules. **Method:** TLC was used for the qualitative identification of Imperatae Rhizoma, Forsythiae Fructus, Dictamnii Cortex and Glycyrrhizae Radix et Rhizoma. HPLC was used to determine the content of phillyrin, which was obtained by a Yilite Hypersil ODS2 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column with the mobile phase composed of acetonitrile-water (25:75), and the column temperature was maintained at 25 °C. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. The detection wavelength was set at 277 nm. **Result:** TLC spots were clear and well-separated without negative interference. The linear range of phillyrin was 0.179-4.29 μg ($r = 0.99997$) with an average recovery of 100.67% (RSD 1.03%, $n = 9$). **Conclusion:** The method is simple, accurate and reproducible, which can be used for the quality control for Peitu Qingxin granules.

[Key words] Peitu Qingxin granules; quality standard; HPLC; phillyrin

培土清心颗粒由白术(炒)、连翘、白茅根、甘草、白鲜皮等 9 味中药组成, 具有培土清心、除烦止痒的功效, 临床用于特应性皮炎、小儿湿疹, 疗效显

著。为了更好地控制其内在质量, 保证临床疗效, 本文采用薄层色谱法对方中白茅根、连翘、白鲜皮和甘草进行了定性鉴别, 采用高效液相色谱法对方中连翘苷的含量进行了测定。

1 材料

1.1 仪器 Waters e2695-2489 型高效液相色谱仪 (美国沃特斯公司), Camag Automatic TLC Sampler 4 全自动薄层点样仪, Camag Reprostar 3 型薄层成像系统 (瑞士卡玛公司), KQ5200DE 型数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司), DHG-9070A 型电热恒温干燥箱 (上海精宏实验设备有限公司), Mettler Toledo XS205DU 型电子分析天平 (瑞士-梅

[收稿日期] 20120401(111)

[基金项目] 广东省科技厅项目(2011KT488); 广东省中医药科学院联合专项(2011KT2120); 广东省财政厅项目[粤财工[2011]572号]

[第一作者] 薛素琴, 博士, 主治医师, 从事新药临床研究工作, Tel: 13760618855, E-mail: questing@126.com

[通讯作者] * 陈达灿, 硕士, 教授, 博士生导师, 从事皮肤病的临床与科研工作, Tel: 020-81887233, E-mail: 4910702@163.com

特勒),HWS-26型电热恒温水浴锅(上海梅香仪器有限公司)。

1.2 试药 白茅根对照药材(批号121145-201003)、连翘对照药材(批号120908-2009015)、白鲜皮对照药材(批号120978-200604)、甘草对照药材(批号120904-201015)、连翘苷对照品(批号110821-201112,供含量测定用,含量以96.8%计)均购于中国食品药品检定研究院;培土清心颗粒(批号20121022,20121023,20121024)由广东省中医研究所提供;乙腈为HPLC级(Merk,美国),水为双蒸水;其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别

2.1.1 白茅根、连翘、白鲜皮 TLC 鉴别 取本品3 g,研细,加水30 mL,煮沸5 min,滤过,滤液加稀HCl调节pH 2~3,用乙酸乙酯振摇提取两次,每次30 mL,合并乙酸乙酯液,蒸干,残渣加乙酸乙酯1 mL使溶解,作为供试品溶液。另分别取白茅根、连翘、白鲜皮对照药材各1 g,加水30 mL,煮沸30 min,滤过,同法制成白茅根、连翘、白鲜皮对照药材溶液。再取按培土清心颗粒制备工艺制成的白茅根、连翘、白鲜皮阴性对照样品,同供试品溶液制备方法制成白茅根、连翘、白鲜皮阴性对照溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010年版一部附录VIB)试验。白茅根:吸取上述3种溶液各10 μL ,分别点于同一硅胶G薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯-甲酸-冰醋酸(6:3:0.5:0.5)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以1%三氯化铁溶液;连翘:吸取上述3种溶液各5 μL ,分别点于同一硅胶G薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯-异丙醇-甲酸(6:4:0.2:0.1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以5%香草醛硫酸溶液,立即在日光下检视;白鲜皮:吸取上述3种溶液各5 μL ,分别点于同一用1%氢氧化钠溶液制备的硅胶G薄层板上,以甲苯-丙酮-甲酸(7:3:0.1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以5%香草醛硫酸溶液,在105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰,置日光下检视。白茅根、连翘、白鲜皮3个供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,均显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰。

2.1.2 甘草 TLC 鉴别^[5] 取本品2 g,研细,加乙醚40 mL,加热回流1 h,滤过,弃去醚液,药渣加甲醇30 mL,加热回流1 h,滤过,滤液蒸干,残渣加水40 mL使溶解,用正丁醇提取3次,每次20 mL,合并正丁醇液,用水洗涤3次,弃去水液,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇1 mL使溶解,作为供试品溶液。另取甘

草对照药材0.2 g,同法制成对照药材溶液。再取按培土清心颗粒制备工艺制成的甘草阴性对照样品,同供试品溶液制备方法制成甘草阴性对照溶液。照薄层色谱法(附录VI B)试验,吸取上述3种溶液各5 μL ,分别点干同一用1%氢氧化钠溶液制备的硅胶G薄层板上,以乙酸乙酯-甲酸-冰醋酸-水(15:1:1:2)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,置紫外光灯365 nm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,阴性对照无干扰。

2.2 含量测定^[5-10]

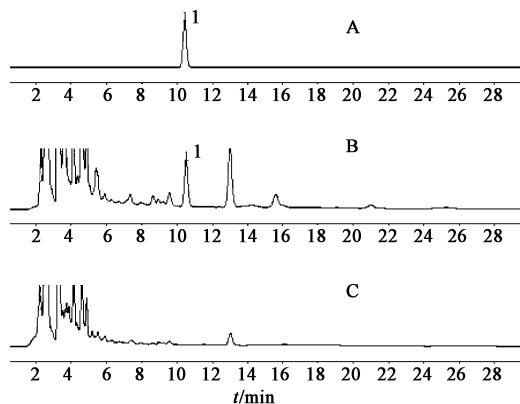
2.2.1 色谱条件 依利特Hypersil ODS2(4.6 mm \times 250 mm,5 μm)柱,流动相乙腈-水(25:75),流速1.0 mL \cdot min⁻¹,检测波长277 nm,柱温25 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.2.2 对照品溶液的制备 取连翘苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成每1 mL含215 μg 的溶液,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品,研细,取约5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇15 mL,密塞,称定质量,超声处理15 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.4 连翘阴性供试品溶液的制备 取连翘阴性对照样品,按照2.2.3项下方法制备溶液。

2.2.5 专属性试验 分别精密吸取上述溶液各10 μL ,注入液相色谱仪,在上述色谱条件下测定。结果在对照品色谱相应的位置上,无其他色谱峰干扰,说明该方法专属性较好,见图1。



A. 连翘苷对照品;B. 供试品;C. 连翘阴性供试品;1. 连翘苷

图1 培土清心颗粒中连翘苷的HPLC

2.2.6 线性关系考察 精密称取连翘苷对照品适量,加甲醇溶解制成每1 mL含连翘苷715 μg 的溶液,分别精密移取0.25,0.5,1,2,3,4,5,6 mL于10 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,制得每1 mL中含连

翘苷分别为 17.9, 35.8, 71.5, 143, 215, 286, 358, 429 μg 的溶液。精密吸取上述对照品溶液 10 μL , 注入液相色谱仪, 测定, 记录峰面积, 以连翘苷的进样量 (μg) 为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 计算回归方程, 结果表明连翘苷在 0.179 ~ 4.29 μg 线性关系良好, 其回归方程为 $Y = 7\ 316.648X - 2\ 807.941$ ($r = 0.999\ 97$)。

2.2.7 稳定性试验 取本品(20121024), 研细, 取约 5 g, 精密称定, 按 2.2.3 项下方法制备溶液, 分别于供试品溶液制备后第 0, 1, 2, 4, 8, 16, 24 h 进样 10 μL , 测得供试品溶液中连翘苷峰面积的 RSD 1.24%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.8 精密密度试验 精密吸取同一批次溶液(批号 20121024) 10 μL , 连续进样 6 次, 测得供试品溶液中连翘苷峰面积的 RSD 0.56%, 表明仪器精密密度良好。

2.2.9 重复性试验 取同一批次样品(批号 20121024), 分别精密称取 6 份, 按 2.2.3 项下方法制备溶液, 依法测定, 计算连翘苷的含量。结果培土清心颗粒中连翘苷的平均含量为 0.68 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 1.4%, 表明本方法有较好的重复性。

2.2.10 加样回收率试验 取已知含量(0.676 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) 的培土清心颗粒(批号 20121024) 9 份, 每份约 2.5 g, 精密称定, 分别按样品含量-对照品加入量大致 1:0.8, 1:1, 1:1.2 的比例, 精密加入浓度分别为 90.220, 112.68, 135.04 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的连翘苷对照品溶液 15 mL, 按 2.2.3 项下方法制备溶液, 依法测定, 计算连翘苷的回收率。见表 1。

表 1 培土清心颗粒中连翘苷加样回收率试验

No.	取样品量 /g	样品 含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1	2.501 2	1.691 1	1.353 3	3.066 4	101.63		
2	2.490 1	1.683 6	1.353 3	3.042 2	100.39		
3	2.513 2	1.699 2	1.353 3	3.073 6	101.56		
4	2.501 3	1.691 1	1.690 2	3.386 5	100.31		
5	2.505 1	1.693 7	1.690 2	3.403 8	101.18	100.67	1.03
6	2.517 1	1.701 8	1.690 2	3.430 0	102.25		
7	2.499 8	1.690 1	2.025 6	3.701 6	99.30		
8	2.511 5	1.698 0	2.025 6	3.712 1	99.43		
9	2.510 6	1.697 4	2.025 6	3.723 0	100.00		

2.2.11 含量测定 分别取装量差异项下的 3 批培土清心颗粒(批号 20121022, 20121023, 20121024),

按 2.2.3 项下方法制备溶液, 分别进样 10 μL 测定培土清心颗粒中连翘苷的含量, 结果含量为 0.653 9, 0.652 3, 0.656 8 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

3 讨论

连翘苷含量测定参考 2010 年版《中国药典》连翘【含量测定】项下方法, 比较了甲醇超声和甲醇超声后再用中性氧化铝柱纯化两种供试品溶液处理方法, 结果表明两种方法所得连翘苷的含量无显著性差异, 因此采用甲醇直接超声提取的方法制备供试品溶液。在此基础上, 比较了超声时间和固液比对连翘苷提取效果的影响, 结果显示超声处理 15 min、固液比为 1:3 时, 测得连翘苷的含量率较高。在连翘苷的含量测定中, 参考药典的色谱条件, 结果分离度较理想, 连翘苷峰形较好, 阴性对照无干扰。

本文所建立的 TLC 方法能准确、快速地鉴别方中所含白茅根、连翘、白鲜皮和甘草, 其 TLC 特征斑点清晰, 分离度好, 阴性对照均无干扰; 连翘苷的 HPLC 含量测定方法准确可靠, 重复性好。上述方法可作为培土清心颗粒的质量控制方法。

【参考文献】

[1] 肖飞, 陈桦, 李其凤, 等. 抗病毒分散片质量标准研究[J]. 中国药业, 2012, 21(21): 25.

[2] 李振荣, 张建生. 白鲜皮及其混淆品的 TLC 鉴别[J]. 中药材, 2000, 23(10): 607.

[3] 王春桃, 符洪. 白山片的薄层色谱鉴别方法研究[J]. 中国热带医学, 2008, 8(6): 1036.

[4] 丁兴伟, 应颖, 杨国勋, 等. 金雀根及其混淆品的薄层色谱鉴别[J]. 现代中药研究与实践, 2008, 22(4): 11.

[5] 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: 80, 159.

[6] 张素方, 程怡, 麦艳珍, 等. 正交试验法优选大连翘胶囊提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(5): 41.

[7] 史大军, 邱海蕴, 康红英. HPLC 法测定清喉咽颗粒中连翘苷的含量[J]. 中国药事, 2012, 26(1): 57.

[8] 何春玲, 丘明明. HPLC 法测定病毒清口服液连翘苷的含量[J]. 中国药房, 2012, 23(15): 1413.

[9] 蔡清宇, 唐慧慧, 康琛, 等. HPLC 测定柴银口服液中连翘苷含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(16): 94.

[10] 魏悦, 李晓, 李白红, 等. HPLC 同时测定连翘药材及提取物中芦丁、连翘酯苷 A 和连翘苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(9): 108.

[责任编辑 顾雪竹]