

# 抗炎消肿丸质量标准的研究

于红艳<sup>1</sup>, 许成刚<sup>2\*</sup>, 刘伟<sup>2</sup>, 崔永霞<sup>2</sup>

(1. 河南省中医院, 郑州 450002; 2. 河南中医学院, 郑州 450008)

**[摘要]** 目的: 建立抗炎消肿丸的质量标准。方法: 采用薄层色谱法(TLC)鉴别成方制剂中地丁、蒲公英、栀子、连翘, 以HPLC测定黄芩苷的含量。结果: TLC鉴别可明显鉴别地丁、蒲公英、栀子、连翘, 黄芩苷在 $0.01648 \sim 0.0824 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 线性关系良好( $r=1$ ), 平均回收率为99.95%, RSD 0.89%。结论: 该方法操作简便, 结果准确, 重复性好, 可用于该制剂的质量控制。

**[关键词]** HPLC; 黄芩苷; 抗炎消肿丸; 薄层色谱; 质量标准。

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)06-0164-03

## Study on Quality Standard of Anti-inflammation Pills

YU Hong-yan<sup>1</sup>, XU Cheng-gang<sup>2\*</sup>, LIU Wei<sup>2</sup>, CUI Yong-xia<sup>2</sup>

(1. Henan Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450002, China;

2. Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish the quality standard for anti-inflammation pills. **Method:** *Viola yedoensis*, *Taraxacum mongolicum*, *Gardenia jasminoides* and *Forsythia suspense* were identified by TLC. Baicalin was determined by HPLC. **Result:** The results of TLC showed that the relevant spots were clear without interference in the blank reference. The content of baicalin showed a good linearity in the range of  $0.01648 \sim 0.0824 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $r = 1.0$ ). The average recovery rate was 99.95% and RSD was 0.89%. **Conclusion:** The established qualitative and quantitative methods are simple, accurate, reliable and reproducible, and can be effectively used for the quality control of anti-inflammation pills.

**[Key words]** HPLC; baicalin; anti-inflammation pills; TLC; quality standard

抗炎消肿丸是由黄芩、蒲公英、紫花地丁、连翘、生栀子等9味中药粉碎成细粉, 过筛, 混匀, 用水泛丸, 干燥制得, 具有清热利湿、解毒消肿、凉血止血之功效, 用于治疗痔疮湿热壅滞型, 同时适用于肛门部术后之局部肿痛。本方为医院制剂, 为有效控制产品内在质量, 采用HPLC对其主要药味黄芩的有效成分黄芩苷进行含量测定<sup>[1-2]</sup>, 并建立了蒲公英<sup>[3]</sup>、紫花地丁<sup>[1,4]</sup>、连翘<sup>[5]</sup>、生栀子的薄层色谱鉴别<sup>[6-8]</sup>, 结果满意, 可作为该制剂的质量控制。

### 1 材料

**1.1 样品来源** 抗炎消肿丸(河南省中医院, 批号20100727, 20100728, 20100729), 粉碎成细粉。

**1.2 仪器与试剂** 戴安高效液相色谱仪, Agilent C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 1/10万电子天平(AE240), 色谱甲醇(天津市四友精细化学品有限公司), 自制双蒸水, 分析甲醇、分析乙酸乙酯、分析乙醇(天津市富宇精细化工有限公司), 石油醚(天津市欧博凯化工有限公司), 三氯甲烷(天津市风船化学试剂科技有限公司), 丙酮(北京北化精细化学品有限责任公司), 甲酸、甲苯(天津市凯通化学试剂有限公司), 磷酸(烟台市双双化工有限公司)。黄芩苷(批号110715-200212), 栀子苷(批号110749-200511), 连翘苷(批号110821-200609)咖啡酸(批号110885-200102)。紫花地丁对照药(批号121429-200602), 栀子对照药材(批号110753-

**[收稿日期]** 20120615(402)

**[第一作者]** 于红艳, 主管药师, 硕士, 从事制剂与药品质量研究, Tel: 0371-60905726, E-mail: yuhongyan009@126.com

**[通讯作者]** \* 许成刚, 副教授, 硕士, 从事数据挖掘及中医药信息化研究, Tel: 0371-65680187, E-mail: xuchenggang001@126.com

200212),连翘对照药材(批号 908-8904)蒲公英对照药材(批号 121195-200602),以上对照品均来自中国药品生物制品检定所。

## 2 定性鉴别

**2.1 紫花地丁的鉴别** 取制剂粉末 12 g 置具塞锥形瓶,甲醇 30 mL,超声处理(功率 300 W,频率 45 kHz)20 min,滤过,蒸干滤液,所得残渣加 15 mL 热水溶解,滤过,滤液再次蒸干,残渣加甲醇 2 mL 溶解,作为供试品。另取紫花地丁对照药材 2 g 及除去紫花地丁的阴性对照药材 12 g,制成对照药材溶液及阴性对照溶液,吸取上述制备溶液各 4  $\mu\text{L}$ ,对照药材溶液 2  $\mu\text{L}$ ,点与同一硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-甲苯-甲酸(3:5:1)的上层溶液为展开剂展开,取出,晾干,置紫外灯(365 nm)检视,与对照药材色谱相应的位置上,供试品色谱中显相同颜色的荧光主斑点,而阴性对照液在此位置上无斑点。

**2.2 蒲公英的鉴别** 取该药材粉末 10 g,5% 甲酸-甲醇溶液 40 mL,超声 20 min,滤过,蒸干,残渣加水 10 mL 溶解,滤过,滤液用乙酸乙酯提取 2 次,合并萃取液蒸干,残渣加甲醇 2 mL 溶解,作为供试品。另取蒲公英对照药材 1 g 和缺蒲公英的阴性对照品 10 g 同法处理,分别作为对照药材溶液和阴性对照溶液。再取咖啡酸对照品,加甲醇制成 0.5  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  溶液,作为对照品溶液,吸取上述 4 种溶液各 3  $\mu\text{L}$ ,点与同一硅胶 G 板上,以三氯甲烷-甲酸-甲醇(9:0.5:1)为展开剂展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视,在与对照药材色谱和对照品色谱相应的位置上,供试品色谱中显相同颜色的荧光主斑点,而阴性对照液在相应位置上无此斑点。

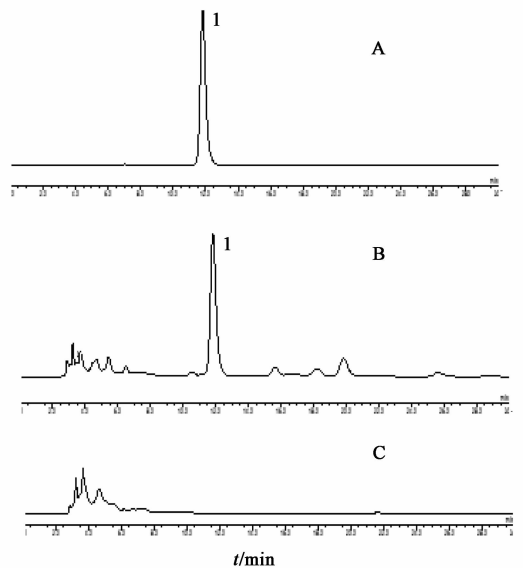
**2.3 栀子的鉴别** 取本品粉末 10 g,加 50% 甲醇 20 mL,超声 40 min,滤过,滤液浓缩至 2 mL 作为供试品溶液,另取栀子对照药材 1 g 和缺栀子的阴性对照药材粉末 10 g,按上述方法制成对照药材溶液剂阴性对照溶液,再取栀子苷对照品,加乙醇制成每 4  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  的溶液,作为对照品溶液,照薄层色谱法试验,吸取上述 3 种溶液各 5  $\mu\text{L}$ ,点与同一硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-丙酮-甲酸-水(5:5:1:1)为展开剂展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 110  $^{\circ}\text{C}$  加热至斑点显色清晰,在与对照药材色谱和对照品色谱相应的位置上,供试品色谱中显相同颜色的斑点,而阴性色谱对照液相应位置中无此斑点。

**2.4 连翘的鉴别** 取该制剂粉末 10 g,石油醚 30 mL 超声 15 min,滤过,弃去石油醚液,残渣挥干石油醚,加甲醇 20 mL 超声 20 min,滤过,滤液蒸干,

残渣加甲醇 2 mL 溶解,作为供试品。另取连翘对照药材 1 g 及缺连翘的阴性药材粉末 10 g,同法制成对照药材溶液及阴性对照溶液。再取连翘苷对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 0.25 mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法试验,吸取上述 3 种溶液各 8  $\mu\text{L}$ ,分别点与同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-甲醇(7.5:1.5)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。而阴性对照液在相应位置上无此斑点。

## 3 含量测定

**3.1 色谱条件及系统适用性试验** Agilent  $\text{C}_{18}$  色谱柱(4.6 mm  $\times$  250 mm,5  $\mu\text{m}$ ),流动相甲醇-0.1% 磷酸水(47:53),检测波长 280 nm,柱温 25  $^{\circ}\text{C}$ ,流速 1  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ;理论板数按黄芩苷峰计算不低于 2 500。见图 1。



A. 对照品;B. 抗炎消肿丸供试品;  
C. 缺少黄芩的阴性供试品;1. 黄芩苷

图 1 抗炎消肿丸的 HPLC 图谱

**3.2 对照品溶液的制备** 精密称定黄芩苷对照品适量于量瓶,加甲醇制成 82.4  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  对照品溶液。

**3.3 供试品溶液的制备** 取供试品粉末 3.0 g,精密称定,加 70% 乙醇 50 mL,加热回流 3 h,放冷,滤过,滤液置 100 mL 量瓶中,加 70% 乙醇至刻度,摇匀。再精密量取 5 mL 滤液置 50 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,得供试品溶液。

**3.4 阴性供试品溶液的制备** 按处方配比,取除黄芩的其他药材,按抗炎消肿丸制法项下的工艺制成丸剂,再按供试品溶液的制备制得阴性供试品溶液。

### 3.5 方法学考察

**3.5.1 线性关系的考察** 精密量取 3.2 项下黄芩苷对照品溶液 2, 4, 6, 8, 10 mL, 甲醇定容至 10 mL, 混匀即得浓度分别为 0.016 48, 0.032 96, 0.049 44, 0.065 93, 0.082 4 g·L<sup>-1</sup> 的黄芩苷对照品溶液。按上述色谱条件各进样 10 μL, 以峰面积 (Y) 为纵坐标, 对照品的量 (X) 为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程  $Y = 532.93X - 4.5965$  ( $r = 1.0$ ), 表明黄芩苷在 0.016 48 ~ 0.082 4 g·L<sup>-1</sup> 线性关系良好。

**3.5.2 精密度试验** 精密吸取同一黄芩苷对照品溶液 10 μL, 重复进样 6 次, 记录黄芩苷峰面积, RSD 0.03%, 表明仪器精密度良好。

**3.5.3 稳定性试验** 精密吸取同一个供试品溶液 10 μL, 分别在 0, 3, 6, 9, 12 h 测定, 记录黄芩苷峰面积, RSD 0.54%, 结果表明黄芩苷在 12 h 内稳定。

**3.5.4 重复性试验** 精密称取供试品样品适量共 6 份, 按 3.3 项下的方法制备供试品溶液, 平行进行测定, 每次进样 10 μL, 测定黄芩苷的含量, RSD 1.85%。

**3.5.5 加样回收率试验** 取已知黄芩苷含量的制剂样品 6 份, 每份约 1.5 g, 精密称定, 精密加入一定量黄芩苷对照品, 其余按照供试品制备方法操作, 作为加样回收供试品溶液, 每次进样 10 μL, 按上述色谱条件进行测定, 黄芩苷的平均回收率为 99.95%, RSD 0.89% ( $n = 6$ ), 见表 1。

表 1 黄芩苷加样回收率试验 ( $n = 6$ )

样品量 /g	样品中含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1.500 0	25.980	25.000	50.893	99.65	99.95	0.89
1.499 9	25.978	25.000	50.846	99.47		
1.500 1	25.982	25.000	51.215	100.93		
1.499 7	25.975	25.000	50.655	98.72		
1.500 0	25.980	25.000	51.238	101.03		
1.499 9	25.978	25.000	50.956	99.91		

注: 加入量均为 5.000 mg。

**3.5.6 专属性试验** 精密吸取阴性对照品溶液 10 μL, 注入液相色谱仪中测定, 阴性供试品在黄芩苷相应的保留时间无色谱峰干扰。

**3.5.7 样品含量测定** 称取成方制剂各 3 份, 每份约 3 g, 精密称定, 制成供试品溶液, 按上述色谱条件进行测定, 计算不同批号中黄芩苷的含量, 测定结果批号 20100727, 20100728, 210100729 的 3 批样品中黄芩苷质量分数分别为 17.32, 18.92, 17.71 mg·g<sup>-1</sup>。

表 2 抗炎消肿丸中黄芩苷含量测定 mg·g<sup>-1</sup>

样品	黄芩苷含量			平均
20100727	17.32	17.35	17.29	17.32
20100728	18.97	18.93	18.86	18.92
20100729	17.69	17.76	17.68	17.71

### 4 讨论

抗炎消肿丸中紫花地丁、蒲公英、栀子、连翘的定性鉴别, 各自的阴性对照液进行了对照试验, 结果无干扰。按处方药味比例, 自配不含黄芩的阴性供试品, 结果发现液相色谱中阴性供试溶液在与黄芩苷对照品相同保留时间处未显色谱峰, 确定无干扰, 说明本法准确可靠, 方法可行。

在定性鉴别中, 采用药典方法 (三氯甲烷-甲醇 8:1) 测定连翘, 连翘苷分离效果不好, 后改为三氯甲烷-甲醇 (7.5:1.5) 作展开剂<sup>[9]</sup>, 取得满意分离效果。

由于该制剂为医院制剂, 为更好地控制制剂质量, 对其中君药黄芩做了 HPLC 的含量测定<sup>[10]</sup>, 测定结果表明黄芩中有效成分黄芩苷在药材中的转移率比较高, 本方制剂中黄芩苷含量应不低于 10 mg·g<sup>-1</sup>, 测定值与药典保持一致。

### [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: 282, 317.

[2] 朱寿光, 张红, 李耀东, 等. 清肺抑火胶囊的质量标准研究[J]. 海峡药学, 2008, 20(4): 22.

[3] 植达诗, 牟晓崑, 袁遥. 复方公英片质量标准的研究[J]. 中国药事, 2010, 24(3): 280.

[4] 吴宗好, 王晓华, 曹明成, 等. 盆腔炎颗粒质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2002, 8(4): 4.

[5] 张贞丽, 韩莉, 袁敏, 等. 连翘薄层鉴别方法研究[J]. 中药材, 2007, 30(1): 31.

[6] 刘良玉, 朱红, 赖娟华. 舒筋活血丸的薄层色谱鉴别研究[J]. 江西中医学院学报, 2010, 22(5): 55.

[7] 杨晔琼, 赵俊苹. 苏格木乐-13 的质量标准中栀子薄层色谱鉴别研究[J]. 北方药学, 2010, 7(3): 16.

[8] 熊志刚, 袁桂平. 2010 版药典炒栀子质量标准研究[J]. 江西中医药, 2010, 330(41): 72.

[9] 赵琦, 张军武, 安国军. 清热解毒口服液薄层鉴别方法的改进研究[J]. 长春中医药大学学报, 2010, 26(6): 957.

[10] 刘清新, 焦艳, 潘海霞, 等. HPLC 测定清热醒脑灵片中黄芩苷[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(22): 83.

[责任编辑 顾雪竹]