

小败毒膏质量标准研究

于密密, 傅欣彤*

(北京市药品检验所, 北京 100035)

[摘要] 目的: 建立小败毒膏质量标准。方法: 采用薄层色谱法进行定性鉴别, 鉴别了方中大黄、黄柏、陈皮、赤芍和甘草, 并建立山银花的检查方法; 采用高效液相色谱法测定小败毒膏中芍药苷的含量。结果: 薄层色谱斑点清晰, 重复性好, 芍药苷在 0.182 4 ~ 3.64 80 μg 线性关系良好, 平均回收率为 98.4%, RSD 1.98%。结论: 方法简便易行, 重复性好, 适用于小败毒膏质量控制。

[关键词] 小败毒膏; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 芍药苷; 质量标准

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)23-0079-04

Studies on Quality Standards for Xiaobaidu Slurry

YU Mi-mi, FU Xin-tong*

(Beijing Institute for Drug Control, Beijing 100035, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the quality standards for Slurry of Xiaobaidu. **Method:** The thin-layer chromatography was adopted for qualitative identification. Paeoniflorin was detected by HPLC. **Result:** The determination method for the content of paeoniflorin was established. The calibration curve of paeoniflorin was linear in the range of 0.182 4-3.648 0 μg . The average recovery of paeoniflorin was 98.4%. **Conclusion:** The method is simple, accurate and reproducible. It can be used for the quality control of compound Xiaobaidu Slurry.

[Key words] Xiaobaidu Slurry; TLC; HPLC; paeoniflorin; quality standard

小败毒膏收载于《卫生部药品标准》中药成方制剂第八册, 由金银花、蒲公英、赤芍、大黄、陈皮、甘草等药味组成, 具有清热解毒、消肿止痛的作用, 临床主治热毒内结、经络阻塞、气血凝滞所致的疔肿、疮疮、痈等症。原标准仅收载了大黄、黄柏的薄层色谱鉴别, 而缺少含量测定项目。为了对小败毒膏质量进行全面控制, 现对小败毒膏的质量标准进行提高完善, 从而保障临床更加安全合理用药。本文增加了陈皮、赤芍、甘草的薄层色谱鉴别, 增加了金银花的常用伪品山银花的检查项目, 同时增加了

赤芍中芍药苷的含量测定^[1-4]

1 仪器与试剂

岛津 LC-20A 高液相色谱仪, DAD 检测器, 色谱柱 CAPCELL PAK C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯, 水为超纯水。对照药材及对照品: 陈皮 (批号 120969-200507), 甘草 (胀果甘草) (批号 121303-200502), 芍药苷 (批号 110736-200833), 甘草苷 (批号 111610-200604) 由中国药品生物制品检定所提供。小败毒膏样品由天津市博爱制药有限公司提供, 批号 111013, 111010, 100201, 100302。

2 方法与结果

2.1 薄层鉴别

2.1.1 陈皮的 TLC 鉴别 取本品 5 g, 加甲醇 25 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加乙醇 1 mL 使溶解, 静置, 取上清液作为供试品溶液。另取橙皮苷对照品, 加甲醇制成饱和溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱 (《中国药典》2010 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取上述两种溶液各 5 μL , 分别点于

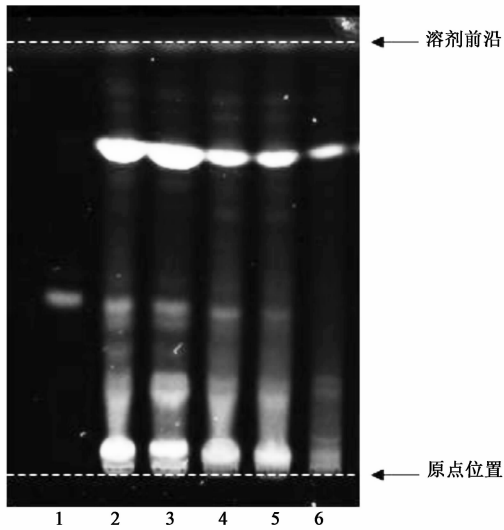
[收稿日期] 20120617(007)

[基金项目] 药典委员会药品质量标准提高项目 ([2010]210)

[第一作者] 于密密, 主管药师, 从事中药质量标准研究工作, Tel: 010-83221422, E-mail: melandy@sina.com

[通讯作者] * 傅欣彤, 主任药师, 从事中药质量标准研究, Tel: 010-83221422, E-mail: xintongfu@yahoo.com

同一用 0.5% 氢氧化钠溶液制备的硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-水(32:17:5)10 ℃ 以下放置的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以三氯化铝乙醇试液,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。见图 1。

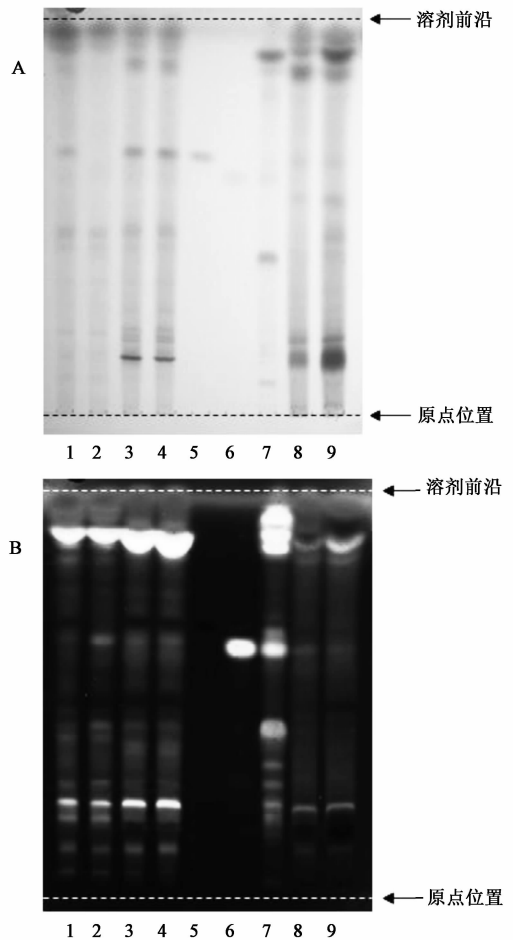


1. 橙皮苷对照品;2~5.4 批样品
(批号 111010,111013,100201,110302);6. 陈皮阴性样品

图 1 陈皮 TLC 图谱

2.1.2 赤芍和甘草的 TLC 鉴别 取本品 10 g,加甲醇 50 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 30 mL 使溶解,用水饱和的正丁醇振摇提取 2 次,每次 30 mL,合并正丁醇液,再用正丁醇饱和的水洗涤 2 次,每次 20 mL,合并正丁醇液,蒸干,残渣加乙醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取甘草对照药材 1 g,同法制成对照药材溶液。再取甘草苷对照品、芍药苷对照品,分别加甲醇制成每 1 mL 各含 0.5 mg 的溶液,作为对照品溶液。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 5~10 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-水(13:7:2)10 ℃ 以下放置过夜的下层溶液为展开剂,展开(必要时在 20 ℃ 以下展开),展距 10 cm,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 105 ℃ 加热至斑点显色清晰。日光下检视,供试品色谱中,在与芍药苷对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点;置紫外光灯(365 nm)下检视,供试品色谱中,在与甘草对照药材色谱和甘草苷对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。见图 2。

2.1.3 山银花 TLC 检查 取本品 10 g,加甲醇 50 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水



1. 甘草阴性; 2. 赤芍阴性;3,4,8,9.4 批样品
(批号 111010,111013,100201,110302);
5. 芍药苷对照品;6. 甘草苷对照品;7. 甘草对照药材

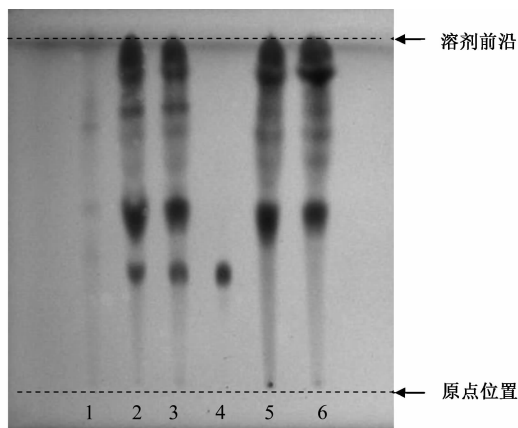
图 2 赤芍和甘草 TLC 图谱(A. 日光,B. 365 nm)

30 mL 使溶解,用水饱和的正丁醇振摇提取 2 次,每次 30 mL,合并正丁醇液,再用氨试液洗涤 2 次,每次 20 mL,合并正丁醇液,蒸干,残渣加乙醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取灰毡毛忍冬皂苷乙对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B)试验,吸取上述两种溶液各 10 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-水(6:4:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 105 ℃ 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,不得显相同颜色的斑点。见图 3。

2.2 含量测定

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取芍药苷对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含 0.1 mg 的溶液,作为对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品 3 g,精密称定,



1. 金银花阴性; 2,3,5,6.4 批样品
(批号 111010,111013,100201,110302);
4. 灰毡毛忍冬皂苷乙对照品

图3 山银花 TLC 色谱

置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,密塞,称定质量,超声处理(功率 500 W,频率 40 kHz)45 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。

2.2.3 色谱条件 色谱柱 CAPCELL PAK C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相 甲醇-0.2% 磷酸 (23:77); 检测波长 230 nm; 流速 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 25 ℃; 理论板数按芍药苷峰计算不低于 4 000。色谱图见图 4。分别精密吸取对照品溶液 10 μL 与供试品溶液各 5 ~ 10 μL, 注入液相色谱仪, 测定, 即得。

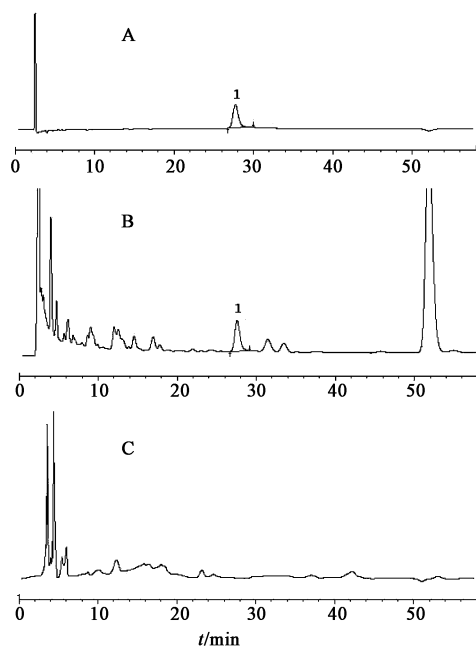
2.2.4 空白试验 空白溶液的制备是按处方中药味的比例, 自配不含赤芍的群样, 按其工艺制成空白制剂, 再按供试品溶液的制备方法制备并测定, 结果空白溶液在与芍药苷对照品相同保留时间处未出现色谱峰, 故认为无干扰。见图 4。

2.2.5 线性关系考察 分别精密吸取芍药苷对照品溶液 (0.182 4 g·L⁻¹) 1, 2, 5, 10, 15, 20 μL, 注入高效液相色谱仪, 按上述色谱条件测定峰面积, 以峰面积积分为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 回归方程为 $Y = 1.242 \times 10^6 X + 2.183 \times 10^4$, $r = 0.999 9 (n = 6)$ 。结果表明芍药苷在 0.182 4 ~ 3.648 0 μg 呈良好的线性关系。

2.2.6 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 (批号 111010), 分别于配制后 0, 4, 8, 12, 18, 24 h, 依法测定, 结果 RSD 1.58%, 表明供试品溶液在配制后 24 h 内基本稳定。

2.2.7 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液, 进样 10 μL, 重复进样 5 次, 求得 RSD 0.91%。

2.2.8 重复性试验 取同一批样品 (批号



A: 芍药苷对照品; B: 样品; C: 空白; 1: 芍药苷

图4 小败毒膏芍药苷 HPLC 图

111010), 平行制备 6 份, 进行含量测定, 结果 RSD 2.62%, 表明方法重复性较好。

2.2.9 准确度试验 精密称取已知含量的同一批样品 (111010, 含量 1.08 mg·g⁻¹) 1.5 g, 精密加入芍药苷对照品溶液 (0.054 72 g·L⁻¹) 25 mL; 照 2.2.2 项下操作, 各平行制备 6 份, 依法测定, 平均回收率为 98.4%, RSD 1.98%。结果见表 1。

表1 芍药苷加样回收率试验

取样量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1.506 6	1.627	1.368	2.959	97.37		
1.512 6	1.634	1.368	2.940	95.47		
1.508 4	1.629	1.368	2.982	98.9		
1.503 5	1.624	1.368	3.007	101.1	98.4	1.98
1.512 3	1.633	1.368	2.994	99.49		
1.507 6	1.628	1.368	2.965	97.73		

2.2.10 范围考察试验 精密称取已知含量的同一批样品 (111010, 含量 1.08 mg·g⁻¹) 0.6 g, 精密加入芍药苷对照品溶液 (0.020 56 g·L⁻¹) 25 mL; 精密称取 3.0 g, 精密加入芍药苷对照品溶液 (浓度为 0.112 8 g·L⁻¹) 25 mL, 照 2.2.3 项下操作, 各平行制备 3 份, 依法测定, 低范围回收率平均值为 97.1%, RSD 0.86%, 高范围回收率为 97.8%, RSD 0.80%。通过以上范围考察试验, 结果表明样品在

含量限度约 75% ~ 400% 测定结果准确性较好。

2.2.11 耐用性考察 对同一批样品(批号 111010, 芍药苷含量为 $1.08 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$), 分别用另外两种不同的色谱柱(Kromasil C_{18} (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm), Agilent ZORBAX Eclipse Plus C_{18} (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm), 对芍药苷的含量进行了测定, 结果表明不同品牌色谱柱色谱峰均可达到基线分离, 测定结果基本一致, RSD 0.54%, 表明该方法耐用性良好。

2.2.12 样品测定 照 2.2.3 项下方法, 测定样品, 结果见表 2。

表 2 样品中芍药苷含量测定

批号	芍药苷/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
111010	1.08
111013	1.08
100201	0.18
110302	0.05

3 讨论

采用本文所建立的供试品溶液处理方法, 可同时实现对赤芍和甘草的鉴别, 简化了操作, 提高了试验效率。

唐小京等曾采用 TLC 及 HPLC 建立了小败毒膏质量标准^[5], 对其中主要药味进行了定性鉴别及对大黄酸、大黄素、大黄酚和大黄素甲醚 4 种成分进行含量测定。本文针对小败毒膏在生产过程中, 容易采用价格便宜的山银花代替金银花投料的实际情况, 不仅建立了金银花的 TLC 方法, 同时增加伪品山银花的检查, 更为全面。并且, 对赤芍中芍药苷进

行含量测定, 以更加科学合理的保证成药质量。

在对赤芍供试品溶液处理方法考察过程中, 曾经考察过甲醇、50% 甲醇、50% 乙醇、70% 甲醇、70% 乙醇、乙醇分别作为提取溶剂, 提取时间也进行过考察, 结果表明, 以 2.2.2 项下供试品处理方法最佳。

对方中蒲公英中咖啡酸的含量进行研究^[6], 色谱条件: 流动相 甲醇-0.2% 磷酸水 (15: 85), 流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 柱温 $25 \text{ }^\circ\text{C}$, 检测波长 323 nm。结果咖啡酸含量均低于为万分之一, 其中两批均低于十万分之一, 故未增加咖啡酸的含量测定。

[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: 306.
- [2] 李明, 陈志维, 黎玉翠, 等. 高效液相色谱法测定养坤丸中黄芩苷和芍药苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(4): 12.
- [3] 缪建春. 克感灵片的薄层色谱鉴别[J]. 中国药师, 2011, 14(7): 1052.
- [4] 何建雄, 赖小平, 魏刚, 等. HPLC 测定银翘柴桂汤中绿原酸、芍药苷、黄芩苷[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(6): 48.
- [5] 唐小京, 唐红, 马俊, 等. 小败毒膏的质量标准研究[J]. 解放军药学报, 2009, 25(1): 52.
- [6] 鲍家科, 许乾丽, 茅向军, 等. HPLC 法测定不同来源杠板归中咖啡酸的含量[J]. 药物分析杂志. 2010, 30(5): 903.

[责任编辑 顾雪竹]

《中国中药杂志》2013 年征订启事

《中国中药杂志》系中国科协主管, 中国药学会主办, 中国中医科学院中药研究所承办的综合性中药学术期刊。创刊于 1955 年 7 月, 是创刊最早、发行量最大的中药学术刊物。《中国中药杂志》全面反映我国中医科研最高学术水平, 主要报道该领域新成果、新技术、新方法与新思路, 内容包括栽培、资源与鉴定、炮制、药剂、化学、药理、不良反应、临床等。设有专论、综述、研究论文、研究报告、临床、学术探讨、药事管理、经验交流、信息等栏目。主要读者对象为医药领域各级管理部门、研究所、大专院校、企业以及医院等从事医药科研、管理、生产、医院制剂及临床研究等方面的专业人员。

《中国中药杂志》现为半月刊, 128 页, 2013 年定价每期 30 元, 全年 24 期定价为 720 元。国内刊号 11-2272/R, 国际刊号 1101-5302。

本刊现已全面实现网络编辑办公, 如欲投稿或联系本刊、获取本刊各种信息动态请登录中国中药杂志网站 www.cjcm.com.cn 或 www.中国中药杂志.com。

联系电话: 稿件查询 010-64045830 转 602; 主任电话 010-64058556; 资源与栽培栏编辑: 010-64048925; 制剂栏编辑: 010-64040392; 化学栏编辑: 010-64040113; 药理栏编辑: 010-84022522; 临床栏编辑: 010-64059766; 电子杂志制作发行及网上维护: 010-64030625。