

小儿泻痢片质量标准

高玉琼, 刘文炜, 李凤, 刘建华*, 霍昕, 杨迺嘉
(贵州省生物技术研究开发基地, 贵阳 550002)

[摘要] 目的: 建立小儿泻痢片质量标准。方法: 采用薄层色谱法对方中的白芍进行定性鉴别; 采用高效液相色谱法测定黄连中盐酸小檗碱含量。结果: TLC 鉴别分离度好, 阴性对照无干扰。HPLC 分析过程中, 盐酸小檗碱与样品中其他组分分离效果好, 盐酸小檗碱进样浓度在 $0.03 \sim 0.48 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 具有良好线性关系 ($r = 0.9999$), 平均回收率 97.36% , $\text{RSD} 1.41\%$ ($n = 6$)。结论: 采用此法测定小儿泻痢片黄连中的盐酸小檗碱含量, 准确可靠, 简便易行, 所建的标准可用于小儿泻痢片的质量控制。

[关键词] 小儿泻痢片; 白芍; 黄连; 盐酸小檗碱; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)20-0099-03

Quality Standard of Xiao'er Xieli Tablet

GAO Yu-qiong, LIU Wen-wei, LI Feng, LIU Jian-hua*, HUO Xin, YANG Nai-jia
(Guizhou Institute of Biotechnology Research and Development, Guiyang 550002, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the quality standard of Xiao'er Xieli tablet. **Method:** *Radix paeoniae alba* was identified by TLC. The content of berberine hydrochloride was determined by HPLC. **Result:** The TLC spots were clear and well-separated. The linear range of berberine hydrochloride was $0.03\text{-}0.48 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ($r = 0.9999$), the average recovery was 97.36% ($\text{RSD} 1.41\%$, $n = 6$). **Conclusion:** The method is practicable, simple and sensitive. It can be used for the quality control of Xiao'er Xieli Tablet.

[Key words] Xiao'er Xieli tablet; *Radix paeoniae alba*; *Rhizoma coptidis*; berberine hydrochloride; TLC; HPLC

[收稿日期] 20101230(004)

[第一作者] 高玉琼, 研究员, 博士, 从事药学研究, Tel: 0851-5713626, E-mail: gaoyuqiong388@163.com

[通讯作者] * 刘建华, 研究员, 从事生物技术制药研究, Tel: 0851-5792246, E-mail: liujianhua58@yahoo.com.cn

小儿泻痢片属复方中药制剂, 功能清热化湿, 止泻止痢, 在临床上用于湿热腹泻, 红、白痢疾等症, 由葛根、黄芩、黄连、厚朴、白芍、茯苓、焦楂、乌梅、甘草、滑石粉组成, 收载于卫生部药品标准《中药成方制剂》第 19 册, 原部颁标准除显微镜观察及化学鉴

[2] 汪红, 王强. HPLC 法测定复方丹参制剂中丹参有效成分的含量[J]. 中国药科大学学报, 2002, 33(3): 219.
[3] 闫豫君, 杨广德, 贺浪冲, 等. RP-HPLC 法同时测定丹参中丹参酮 II_A 和隐丹参酮的含量[J]. 中草药, 2002, 33(4): 363.
[4] 陈蕾, 朱霁虹. 丹参中 4 种脂溶性成分的含量测定[J]. 中国药事, 2004, 18(12): 749.
[5] 柳涛. HPLC 法测定药典方丹参片中丹参酮 II_A 及丹酚酸 B 的含量[J]. 药物研究, 2008, 5(23): 30.
[6] 杨锁成, 汪坤, 张振凌. HPLC 同时测定复方丹参降浊丸中丹参酮 II_A 和丹酚酸 B[J]. 中国实验方剂学杂

志, 2011, 17(9): 84.
[7] 谭生建, 陈培让, 王建社. RP-HPLC 法测定抗栓宝心片中丹参酮 II_A 含量[J]. 中国中药杂志, 1999, 24(3): 154.
[8] 张荣, 王涛, 何思敏. 丹参-三七药对不同配伍比例对丹参素含量的影响[J]. 亚太传统医药, 2009, 5(8): 49.
[9] 游燕, 徐国良, 张启云, 等. RP-HPLC 同时测定复方丹参片中多种有效成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(18): 50.

[责任编辑 蔡仲德]

别外,无 TLC 鉴别及含量测定指标^[1]。为有效控制该制剂的质量,确定了白芍 TLC 鉴别方法;选择黄连中的有效成分盐酸小檗碱作为含量检测指标,建立了 HPLC 测定小儿泻痢片中盐酸小檗碱含量测定方法^[2-4]。

1 仪器与试药

岛津 LC-2010AHT 高效液相色谱仪;LIBROR AEL-160 型 1/万电子分析天平, TG332A 型 1/10 万分析天平。盐酸小檗碱对照品(批号 110713-200609, 含量为 98.1%)、白芍对照药材(批号 120905-200407)购于中国生物制品检定所;乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯;供试品小儿泻痢片由贵州省科晖制药企业技术中心提供。

2 方法和结果

2.1 小儿泻痢片白芍 TLC 鉴别^[2] 取本品及缺白芍的阴性对照细粉各 0.5 g, 分别加入乙酸乙酯 1 mL, 浸泡 30 min, 振摇, 离心, 取上清液作为供试品溶液及阴性对照溶液。另取白芍对照药材 0.1 g, 同法处理。照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取以上 2 种溶液各 5 μ L, 分别点于同一用硅胶 G 薄层板上, 以石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)-乙酸乙酯-甲酸(4:1:0.1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷磷钼酸试液, 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点清晰。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色斑点, 阴性对照在相应斑点位置无干扰。

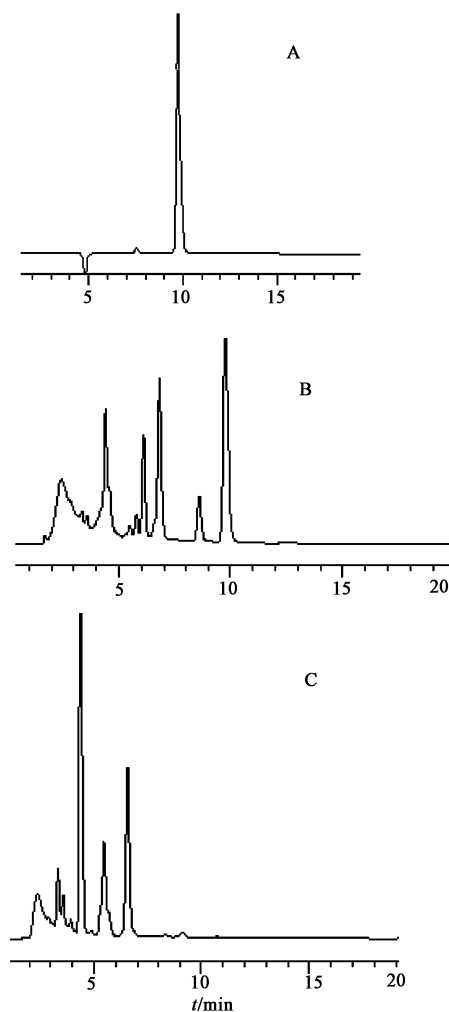
2.2 盐酸小檗碱含量测定^[2-4]

2.2.1 色谱条件 菲罗门十八烷基硅烷键合高纯硅胶柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m), 流动相乙腈-0.01 mol \cdot L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液-三乙胺-磷酸(30:70:0.4:0.2), 检测波长 364 nm, 柱温 30 $^{\circ}$ C, 进样量 20 μ L。理论塔板数按盐酸小檗碱峰计算不低于 6 000。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品, 除去包衣, 研成细粉, 取约 0.2 g, 精密称定, 精密加入流动相 25 mL, 称定质量, 超声处理 30 min, 放冷, 再称定质量, 用流动相补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。取缺黄连的制剂, 照供试品制备, 同法制成阴性对照品溶液。见图 1。

2.2.3 对照品溶液的制备 精密称取在 100 $^{\circ}$ C 干燥 5 h 的盐酸小檗碱对照品适量, 加流动相制成 0.12 g \cdot L⁻¹ 的溶液, 即得。

2.2.4 线性关系考察 精密量取不同浓度的盐酸小檗碱对照品溶液(0.030 0, 0.060 1, 0.120 1,



A. 对照; B. 样品; C. 阴性样品; 1. 盐酸小檗碱

图 1 小儿泻痢片高效液相色谱

0.240 2, 0.480 4 g \cdot L⁻¹) 20 μ L 注入液相色谱仪, 进行盐酸小檗碱测定, 以盐酸小檗碱峰面积 A 对盐酸小檗碱浓度 C 进行线性回归, 线性回归方程 $A = 28\ 687\ 240C + 17\ 747$ ($r = 0.999\ 9$), 盐酸小檗碱质量浓度在 0.03 ~ 0.48 g \cdot L⁻¹ 呈良好的线性关系。

2.2.5 精密密度试验 精密量取盐酸小檗碱对照品溶液 20 μ L 注入液相色谱仪, 按 2.2.1 项下色谱条件重复进样 6 次, 以盐酸小檗碱的峰面积计算, RSD 0.11%, 表明仪器精密密度良好。

2.2.6 重复性试验 精密称取同批样品 6 份, 按照 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.2.1 项下色谱条件进行测定, 以盐酸小檗碱的峰面积计算, RSD 1.80%。表明方法重复性良好。

2.2.7 稳定性试验 精密量取样品 1 份, 按照 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 照 2.2.1 项下色谱

条件分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 进行测定, 以盐酸小檗碱峰面积计算, 结果表明, 供试品在 10 h 内, RSD 0.23%, 结果表明供试品溶液在 10 h 内稳定。

2.2.8 加样回收率试验 称取已知含量的同批样品 6 份, 分别精密加入盐酸小檗碱, 按照 2.2.2 项下方法制备供试品溶液。照 2.2.1 项下色谱条件测定, 计算加样回收率。结果表明加样平均回收率为 97.36%, RSD 1.41%, 见表 1。

表 1 盐酸小檗碱加样回收测定

No.	样品中含量	加入量	测得量	回收率	平均回收率	RSD
	/mg	/mg	/mg	/%	/%	/%
1	1.240	1.200	2.421 4	98.45	97.36	1.41
2	1.241	1.200	2.416	97.96		
3	1.243	1.200	2.424	98.36		
4	1.230	1.200	2.372	95.17		
5	1.243	1.200	2.421	98.11		
6	1.238	1.200	2.392	96.11		

2.2.9 样品含量及限度 取各批次小儿泻痢片样品, 按照 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 照 2.2.1 项下色谱条件测定。小儿泻痢片中含盐酸小檗碱分别为 12.37, 11.38, 12.46, 11.98, 12.29, 11.84, 12.58, 12.52, 12.36, 12.30 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。盐酸小檗碱平均转移率 93.24%, 由此得出, 小儿泻痢片中含黄连以盐酸小檗碱计不得少于 7.0 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

3 讨论

对本制剂中白芍进行 TLC 鉴别试验, 均与阴性样品为对照。结果表明, 各 TLC 斑点不受样品中其它成分干扰, 专属性强, 重复性好。可作为该制剂定性鉴别指标。以葛根素为对照, 对葛根进行了薄层

层析研究, 结果对应斑点不明显, 估计葛根素属于酯溶性物质, 水提取工艺对葛根素提取不完全所致, 还对黄芩、甘草厚朴、茯苓、焦楂、乌梅等对照药材对本品进行 TLC 研究, 但由于阴性干扰严重, 有待于今后的进一步研究。

本品处方中黄连的有效成分为盐酸小檗碱, 故选择盐酸小檗碱作为含量测定指标, 达到有效控制产品质量的目的。

本试验对多种流动相进行了考察, 根据样品的分离度、保留时间等因素, 确定了盐酸小檗碱 HPLC 的最佳流动相为乙腈-0.01 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸二氢钾溶液-三乙胺-磷酸 (30:70:0.4:0.2)。

对小儿泻痢片样品中盐酸小檗碱的提取溶剂进行了筛选, 曾采用甲醇、乙醇、1% 盐酸甲醇、1% 盐酸乙醇、水、流动相等溶剂进行超声提取, 结果甲醇、乙醇、1% 盐酸甲醇、1% 盐酸乙醇, 杂质峰较多, 水提取不完全, 用流动相提取效果较好, 故选用流动相作为盐酸小檗碱的提取溶剂。还对超声时间进行了考察, 结果样品超声 30 min, 盐酸小檗碱提取完全。

[参考文献]

- [1] 卫生部药品标准. 中药成方制剂: 第 19 册 [S]. 1998:18.
- [2] 中国药典. 一部 [S]. 2005:附录 31, 33, 213.
- [3] 席国萍, 何照范. 黄连中小檗碱的提取工艺 [J]. 山地农业生物学报, 2004, 23 (6): 502.
- [4] 朱强, 王有为, 齐海涛, 等. 不同品系黄连产量和质量的研究 [J]. 中草药, 2006, 12 (32): 1866.

[责任编辑 蔡仲德]