

四消丸的质量标准研究

赖新华¹, 唐丽丽²

(1. 韶关市粤北医院药剂科, 广东 韶关 512026; 2. 韶关市药品检验所, 广东 韶关 512028)

[摘要] 目的: 建立四消丸的质量标准。方法: 采用 TLC 法对四消丸中大黄、槟榔和香附进行定性鉴别, 采用 HPLC 法测定制剂中大黄素和大黄酚的含量。结果: 在薄层色谱中能检出大黄、槟榔和香附; 含量测定中大黄素在 0.051 3 ~ 0.256 5 μg 浓度范围内呈良好的线性关系 ($r=0.999 7$); 大黄酚在 0.153 9 ~ 0.769 5 μg 呈良好的线性关系 ($r=0.999 5$)。结论: 建立的分析方法简便可行, 专属性强, 可用于四消丸的质量控制。

[关键词] 四消丸; 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(2010)18-0068-03

Studies on Qualitative and Quantitative Methods of Sixiaowan Pill

LAI Xin-hua¹, TANG Li-li²

(1. Yuebei People's Hospital, Shaoguan 512026, China;

2. Shaoguan Institute for Drug Control, Shaoguan 512028, China)

[Abstract] Objective: To study the qualitative and quantitative methods of Sixiaowan pill. **Method:** Radix et Rhizoma Rhei, Rhizoma Cyperi, *Crataegus pinnatifida* and *Areca catechu* in Sixiaowan pill were identified with the method of TLC. The contents of emodin and chrysophanol were determined with the method of HPLC. **Result:** For TLC, the spots of four herbal drugs were well separated and without interference. Emodin and chrysophanol were linear in the range of 0.051 3-0.256 5 μg and 0.153 9-0.769 5 μg respectively. **Conclusion:** The methods set up by this study were accurate and easy to perform with the merits of good resolution, specificity and reproducibility. It could effectively control the quality of Sixiaowan pill.

[Key words] Sixiaowan pill; TLC; HPLC

四消丸是由大黄、香附和槟榔等 7 味药组成, 具有消水、消痰、消食、滞气, 导滞通便的功效。用于一切气食痰水, 停积不化, 胸脘饱闷, 腹胀疼痛, 大便秘结。是中成药中较常用的药物, 收载于《卫生部药品标准》中成药制剂第二册^[1], 质量标准中鉴别项下仅有大黄 TLC 的鉴别, 且无含量测定项。为了有效地控制该制剂的质量, 本文增加了槟榔和香附的 TLC 鉴别和大黄中的大黄素、大黄酚的 HPLC 含量测定方法, 并提高了大黄 TLC 鉴别方法。为四消丸的质量标准制定了简便可行、准确可靠的定性、定量

检测方法。

1 材料

1.1 仪器 岛津 LC-2010CHT 高效液相色谱仪(四元泵, 在线脱气机, 自动进样器, 柱温箱, 可变波长检测器)、LCsolution 工作站; DS10260 超声波清洗机(天津市东康科技有限公司)。

1.2 药品与试剂 大黄素对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 0756-200211); 大黄酚对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110796-200514); 甲醇、乙腈为色谱纯(Fisher Chemicals); 水为纯化水; 其余试剂均为分析纯; 四消丸(河南怀庆药业有限责任公司生产, 批号 20080701, 20080106, 20081122)。

2 方法与结果

2.1 大黄、槟榔的薄层色谱鉴别 取本品 8 g, 研

[收稿日期] 20100608(003)

[作者简介] 赖新华, 主管药师, 从事医院药剂工作, Tel: 0751-8736706

细,加甲醇 6 mL 和乙醚 15 mL,振摇混匀,在 60 水浴中加热回流 30 min,滤过,滤液加水 10 mL,振摇,乙醚层用无水硫酸钠 1 g 脱水,乙醚液挥干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取大黄对照药材、槟榔对照药材各 0.3 g,分别加甲醇 3 mL,超声处理 10 min,取上清液作为对照药材溶液。取除大黄、槟榔外的其他药材,按处方比例及工艺制备不含大黄、槟榔的阴性样品,按供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 VI B) 试验,吸取上述溶液各 5 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯-甲酸(12 3 0.1) 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,在与对照药材色谱相应的位置上,分别显相同颜色的荧光斑点,阴性无干扰。

2.2 香附的薄层色谱鉴别^[2] 取本品 12 g,研细,加水 200 mL,转移至 500 mL 圆底烧瓶中,连接挥发油提取器,自测定器上端加水至刻度,并溢流入烧瓶时为止,再加入石油醚(60 ~90) 1.5 mL,煮沸提取 1 h,分取石油醚,作为供试品溶液。另取香附对照药材 0.5 g,加石油醚 5 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液作为对照药材溶液。另取 -香附酮对照品,加乙酸乙酯制成 1 g·L⁻¹ 的溶液,作为对照品溶液。取除香附外的其他药材,按处方比例及工艺制备不含香附的阴性样品,按供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 VI B) 试验,吸取供试品溶液和对照药材溶液各 10 μ L、对照品溶液 5 μ L、阴性对照溶液 10 μ L,分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯(9.3 1) 为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光下(254 nm) 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,显相同颜色的斑点;喷以 2,4-二硝基苯肼试剂,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,显相同颜色的斑点,阴性无干扰。

3 大黄素、大黄酚的含量测定^[3]

3.1 色谱条件 色谱柱为依利特 Hypersil ODS 柱(4.6 mm ×250 mm, 5 μ m), 甲醇-0.1% 磷酸溶液(85 15) 为流动相;检测波长为 254 nm。流速为 1.0 mL·min⁻¹, 柱温 25 , 进样体积 10 μ L, 理论板数按大黄素峰计算不低于 2 000。在此色谱条件下,样品分离良好,结果见图 1。

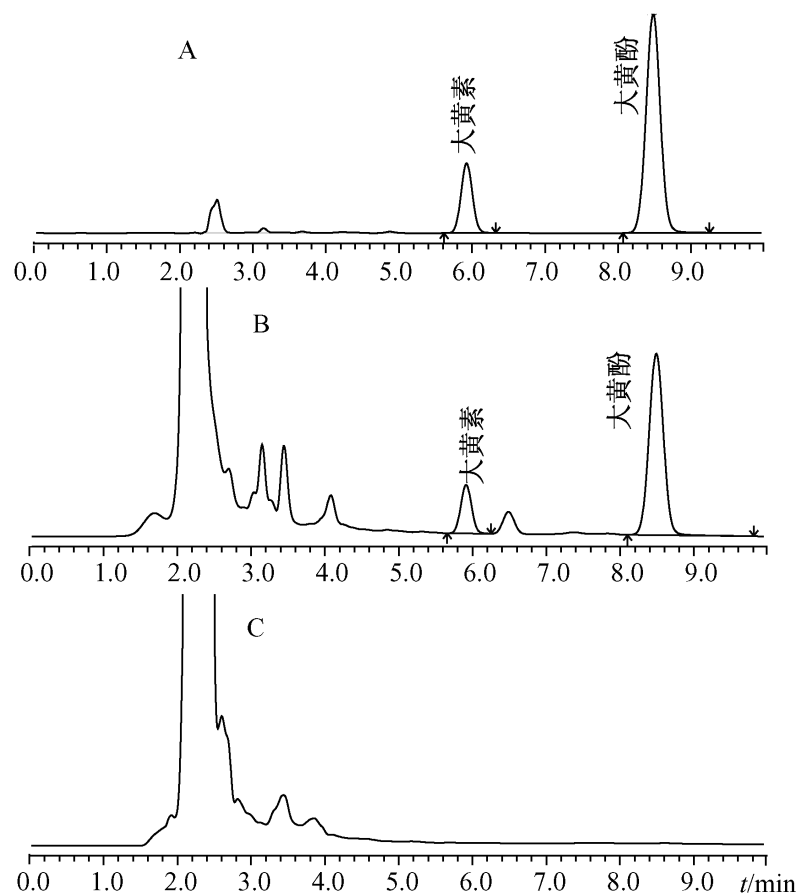


图 1 四消丸色谱图

A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性

3.2 对照品溶液的制备 精密量取大黄素($C_{15}H_{10}O_5$) 对照品适量, 大黄酚($C_{15}H_{10}O_4$) 对照品适量, 加甲醇制成 0.010 26 g·L⁻¹ 和 0.030 78 g·L⁻¹ 的混合溶液。

3.3 标准曲线及线性关系考察 精密吸取上述对照品溶液 5, 10, 15, 20, 25 μ L 分别在上述色谱条件下进样测定, 记录色谱图。将峰面积对浓度进行线性回归, 结果大黄素($C_{15}H_{10}O_5$) 在 0.051 3 ~0.256 5 μ g 呈良好的线性关系, 回归方程 $Y=5.16 \times 10^5 X - 5.91 \times 10^3$, $r=0.999 7$; 大黄酚($C_{15}H_{10}O_4$) 在 0.153 9 ~0.769 5 μ g 呈良好的线性关系, 回归方程为 $Y=7.59 \times 10^5 X - 4.31 \times 10^3$, $r=0.999 5$ 。

3.4 供试品溶液的制备 取本品粉末 1.0 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇-盐酸(10 1) 混合溶液 25 mL, 密塞, 称定质量, 80 水浴加热回流 30 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇-盐酸(10 1) 混合溶液补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 作为供试品溶液。

3.5 精密度试验 取标准曲线中的对照品溶液(质量浓度为大黄素 0.010 26 g·L⁻¹ 和大黄酚 0.030 78 g·L⁻¹), 按上述色谱条件下分别进样 10 μ L, 连续进样 6 次, 测得大黄素 RSD 1.0%, 大黄酚 RSD 1.2%。

3.6 稳定性试验 取精密度试验的样品, 在室温下放置 0, 12, 48 h 后测定, 3 次测定的大黄素 RSD 1.2%, 大黄酚 RSD 1.3%, 表明该方法稳定性好。

3.7 重复性试验 取同一批四消丸(批号 20080701),按样品的制备方法制备 6 份,同法制成供试品溶液,测定,记录峰面积,测得大黄素 RSD 0.2%,大黄酚 RSD 0.03%,表明该方法重复性较好,RSD 符合规定。

3.8 回收率试验 取样品(批号 20080701,大黄素质量分数 $0.206 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$,大黄酚质量分数 $0.782 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$)约 1 g,共 6 份,分别加入对照品(大黄素 $0.041 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$;大黄酚 $0.155 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)溶液 5.0 mL,按样品测定法测定。进样 10 μL ,注入液相色谱仪,记录色谱图。计算回收率。结果见表 1~2。

表 1 大黄素回收率试验

称样量 /g	供试品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1.027 7	0.211 7	0.205 0	0.414 2	98.78%	98.4%	1.1%
1.031 5	0.212 5	0.205 0	0.412 0	97.32%		
1.028 1	0.211 8	0.205 0	0.414 4	98.83%		
1.026 2	0.211 4	0.205 0	0.416 8	100.20%		
1.028 4	0.211 9	0.205 0	0.411 5	97.39%		
1.027 0	0.211 6	0.205 0	0.411 8	97.68%		

表 2 大黄酚回收率试验

称样量 /g	供试品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1.027 7	0.803 7	0.775 0	1.563 8	98.08%	97.3%	0.9%
1.031 5	0.806 6	0.775 0	1.558 1	96.96%		
1.028 1	0.804 0	0.775 0	1.547 3	95.91%		
1.026 2	0.802 5	0.775 0	1.555 3	97.14%		
1.028 4	0.804 2	0.775 0	1.556 1	97.02%		
1.027 0	0.803 1	0.775 0	1.566 7	98.53%		

3.9 样品测定 取 3 批样品按供试品溶液制备法制备,并按上述色谱条件测定峰面积,每批样品测定 3 份,以外标法计算质量分数,取其质量分数平均值,结果见表 3~4。

表 3 样品(大黄素)测定($n=3$)

批号	检出量 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$			平均检出量 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	RSD/%
20080701	0.208	0.205	0.204	0.206	1.0
20080106	0.203	0.206	0.203	0.204	0.8
20081122	0.205	0.206	0.208	0.207	0.7

表 4 样品(大黄素)测定($n=3$)

批号	检出量 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$			平均检出量 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	RSD/%
20080701	0.791	0.776	0.780	0.782	1.0
20080106	0.783	0.783	0.770	0.779	1.0
20081122	0.788	0.789	0.788	0.788	1.3

4 结果与讨论

香附薄层鉴别鉴定的成分为 -香附酮,具有挥发性,故在进行薄层鉴别时室温不应高于 27 $^{\circ}\text{C}$ 。

由于无法考察采用更多批次的四消丸的大黄素、大黄酚含量,因此,含量限度的制订考虑到将来的覆盖面,检测允许一定的误差范围,参照中药的有关资料,含量幅度相对较宽,取表 3~4 3 批结果的平均值的 60% 为下限,即质量分数限度暂时制定为大黄素不得少于 $0.12 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,大黄酚不得少于 $0.47 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

[参考文献]

- [1] 卫生部药典委员会. 卫生部药品标准、中药成方制剂 [S]. 第 2 册. 2008: 78.
- [2] 孙凤利,杨立新,崔淑莲. 健胃胶囊质量标准的研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(2): 24.
- [3] 张大军,王兆华,李湘玉. 高效液相色谱法测定炎可宁片中大黄素、大黄酚的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(4): 24.

[责任编辑 顾雪竹]