

疱疹病毒片质量标准研究

饶伟源*, 邱宏聪, 兰保强, 李茂
(广西中医药研究院, 南宁 530022)

[摘要] 目的: 建立疱疹病毒片的质量标准。方法: 采用 TLC 法对制剂中的黄连、栀子、徐长卿、猪胆粉进行定性鉴别, 采用 HPLC 对制剂中的黄芩苷进行含量测定。结果: TLC 法可检出黄连、栀子、徐长卿、猪胆粉; 黄芩苷在 0.097 6 ~ 2.440 0 μg 线性关系良好, 相关系数为 $r=0.999\ 9$, 平均回收率 100.91%, RSD 1.24%, 结论: 本法操作简便, 快重复性好, 可作为本品的质量控制。

[关键词] 疱疹病毒片; 薄层色谱法; 高效液相法; 黄芩苷

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)11-0080-03

Study on Quality Standard for Paozhen Bingdu Tablet

RAO Wei-yuan*, QIU Hong-cong, LAN Bao-qiang, LI Mao

(Guangxi Academy of Traditional Medical and Pharmaceutical Sciences, Nanning, China 530022)

[Abstract] **Objective:** To establish the quality standard of Paozhen Bingdu Tablet. **Method:** TLC was adopted to identify Rhizoma Coptidis, Fructus Gardeniae, Radix et Rhizoma Cynanchi Paniculati and Pulvis Fellis Suis in Paozhen Bingdu Tablet. HPLC was adopted to determine the content of Baicalin in Paozhen Bingdu Tablet. **Result:** Rhizoma Coptidis, Fructus Gardeniae, Radix et Rhizoma Cynanchi Paniculati and Pulvis Fellis Suis could be identified by TLC. Baicalin was linear in the range of 0.097 6-2.440 0 μg , $r=0.999\ 9$, the average recovery was 100.91%, RSD 1.24%. **Conclusion:** The established method is simple, convenient and reproducible and it can be used for the quality control of Paozhen Bingdu Tablet.

[Key words] Paozhen Bingdu Tablet; TLC; HPLC; baicalin

疱疹病毒片是广西强寿药业集团有限公司委托我院研究开发的六类新药, 主要由黄芩、黄连、栀子、紫草、徐长卿和猪胆粉等 6 味药材经提取加工制成的薄膜衣片。具有凉血、活血、清热解毒的功效。用于血热邪毒以及肝胆湿热引起的病毒性疱疹。方中君药黄芩具有清热燥湿、泻火解毒的功能^[1], 其所含的有效成分黄芩苷有抗菌、抗炎、抗过敏反应及清热利胆等作用^[2], 为了更好控制制剂的质量, 本实验采用薄层色谱法对方中黄连、栀子、徐长卿和猪胆粉进行鉴别, 采用高效液相法对黄芩中的黄芩苷进行含量测定, 结果本法操作简便, 可作为本品的质量

控制。

1 材料

1.1 仪器 日本岛津公司 LC-10AT 高效液相色谱仪; SPD-10A 紫外检测器; 威玛通用多媒体色谱数据工作站。

1.2 试药 黄芩苷对照品由中国药品生物制品检定所提供(批号 715-200010, 供含量测定用)。甲醇为色谱纯, 乙醇、醋酸为分析纯, 水为重蒸水。疱疹病毒片由广西强寿药业集团有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 鉴别试验

2.1.1 黄连薄层鉴别^[1] 取本品 5 片, 除去包衣, 研细, 加甲醇 20 mL, 加热回流 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加 2% 盐酸溶液 10 mL 使溶解, 滤过, 滤液用三氯甲烷振摇提取 2 次, 每次 10 mL, 弃去三氯甲

[收稿日期] 2010-01-20

[通讯作者] * 饶伟源, 实验师, 从事中药质量标准研究及新药开发, Tel: 0771-5868874, E-mail: nn_rwy163.com.cn@

烷液,酸水液用浓氨试液调 pH 9 ~ 10,用三氯甲烷振摇提取 2 次,每次 10 mL,合并三氯甲烷液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,滤过,滤液作为供试品溶液。另取缺黄连药材的阴性样品 1.7 g 同法制成阴性对照溶液;再取盐酸小檗碱和盐酸巴马汀适量加甲醇制成 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液,作为对照品溶液。吸取上述 3 种溶液各 5 μL ,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上,以苯-醋酸乙酯-甲醇-异丙醇-水(6:3:1.5:1.5:0.3)的为展开剂,另槽加入等体积的浓氨试液预饱和 10 min,展开,取出,晾干,在紫外光灯(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,阴性无干扰。

2.1.2 徐长卿的薄层鉴别^[1] 取本品 10 片,除去包衣,研细,加乙醚 30 mL,加热回流 30 min,滤过,滤渣备用,滤液蒸干,残渣加丙酮 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取按处方比例缺徐长卿药材的阴性样品 3.4 g 同法制成阴性对照溶液;再取丹皮酚适量加丙酮制成 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液,作为对照品溶液。吸取供试品溶液和阴性溶液各 10 μL ,对照品溶液 5 μL ,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上,以环己烷-醋酸乙酯(3:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 2% 三氯化铁乙醇溶液,热风吹至斑点清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性无干扰。

2.1.3 栀子的薄层鉴别 取 2.1.2 项下滤渣,加乙醇 30 mL,加热回流 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 15 mL 使溶解,用醋酸乙酯振摇提取 2 次每次 20 mL,合并醋酸乙酯液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取缺栀子药材的阴性样品 3.4 g 同法制成阴性对照溶液;再取栀子苷适量加甲醇制成 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液,作为对照品溶液。吸取供试品溶液和阴性溶液各 5 μL ,对照品溶液 3 μL ,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-浓氨试液(8:2:0.4)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 20% 硫酸乙醇溶液,热风吹至斑点清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。阴性无干扰。

2.1.4 猪胆粉的薄层鉴别^[3] 取本品 10 片,除去包衣,研细,加甲醇 30 mL,加热回流 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加 10% 氢氧化钠溶液 20 mL 使溶解,置 120 $^{\circ}\text{C}$ 加热 2 h,滤过,滤液用稀盐酸调 pH

2 ~ 3,用醋酸乙酯振摇提取 2 次,每次 20 mL,合并醋酸乙酯提取液,蒸干,残渣加乙醇 1 mL 使溶解,滤过,滤液作为供试品溶液。另取缺猪胆粉药材的阴性样品 3.4 g 同法制成阴性对照溶液;再取猪去氧胆酸适量加乙醇制成 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液,作为对照品溶液。吸取上述 3 种溶液各 10 μL ,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上,以环己烷-醋酸乙酯-冰醋酸(7.5:2.5:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,热风吹至斑点清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性无干扰。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件 Diamonsil C_{18} 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μm),流动相以甲醇-水-醋酸(46:54:1);流速 1.0 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$;检测波长 280 nm;柱温室温;进样量 10 μL 。理论塔板数按黄芩苷峰计算,应不低于 4 000。

2.2.2 对照品溶液的制备 称取在 60 $^{\circ}\text{C}$ 减压干燥 4 h 的黄芩苷对照品适量,置量瓶中,加 70% 乙醇制成每 40 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品 20 片,除去包衣,精密称定,研细,精密称定 0.1 g,置锥形瓶中,精密加入 70% 乙醇 50 mL,称定质量,超声处理 30 min,放冷,再称定质量,用 70% 乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,弃去初滤液,取续滤液,即得。

2.2.4 阴性干扰试验 取缺黄芩药材的阴性样品,按 2.2.3 项下方法制成阴性对照溶液,按拟订的色谱条件测定。结果阴性对照在黄芩苷出峰位置无吸收峰,表明处方中其他成分对测定无干扰,图 1。

2.2.5 线性关系考察 精密称取黄芩苷对照品 12.20 mg,置 50 mL 量瓶中,加 70% 乙醇使溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备溶液。精密量取对照品贮备溶液 0.2, 0.5, 1, 3, 5 mL,分别置 10 mL 量瓶中,加 70% 乙醇稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液,分别注入 20 μL 进行测定。以黄芩苷(μg)为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)绘制标准曲线,得回归方程为 $Y = 2.8288 \times 10^6 X + 6.8714 \times 10^4$, $r = 0.9999$ 。结果,当进样量在 0.097 6 ~ 2.440 0 μg 黄芩苷进样量与峰面积呈良好的线性关系。

2.2.6 精密度试验 对同一供试品溶液,按拟订的色谱条件,连续测定 5 次,平均值为 18.35 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 0.68%。试验表明,本法的精密度良好。

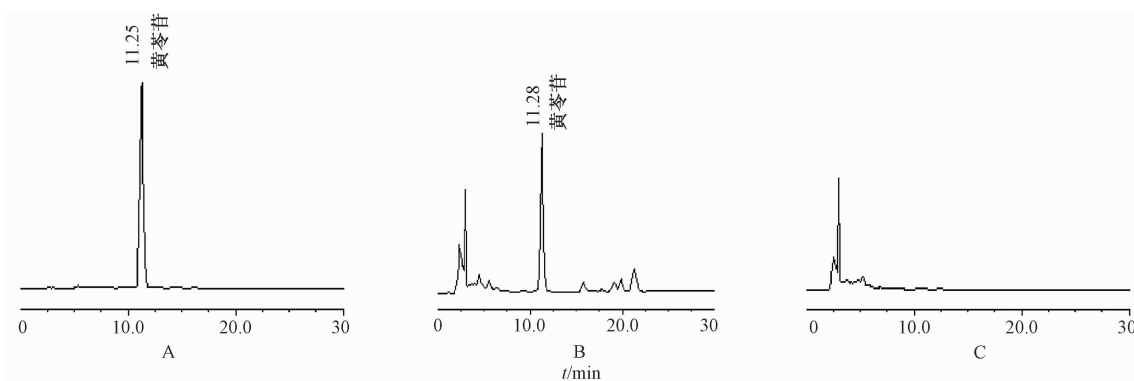


图 1 疱疹病毒片的 HPLC

A. 黄芩苷对照品; B. 疱疹病毒片; C. 阴性对照

2.2.7 重复性试验 对同一批样品平行测定 5 份, 结果平均值为 $18.39 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 0.90%。结果表明, 本法的重复性良好。

2.2.8 稳定性试验 对同一份供试品溶液, 每隔一定时间测定 1 次, 共测定 7 次, 平均值为 $18.40 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 为 0.99% 试验表明供试品溶液在 24 h 内, 供试品溶液稳定。

2.2.9 加样回收率测定 精密称取黄芩苷对照品 9.76 mg, 置 500 mL 量瓶中, 加 70% 乙醇使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。精密称取样品 (含量为 $18.39 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) 约 0.05 g, 平行取 5 份样, 分别精密加入上述黄芩苷对照品溶液 50 mL, 按拟订的方法提取、测定, 结果平均回收率 100.91%, RSD 1.24%, 见表 1。

表 1 黄芩苷回收率测定

No.	取样量/g	样品含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
1	0.052 10	0.958 1	0.976 0	1.955 1	102.15		
2	0.052 21	0.960 1	0.976 0	1.925 1	98.87		
3	0.054 18	0.996 4	0.976 0	1.980 8	100.86	100.91	1.24
4	0.053 42	0.982 4	0.976 0	1.968 0	100.98		
5	0.053 73	0.988 1	0.976 0	1.980 5	101.68		

2.2.10 样品测定 按拟订的含量测定方法, 测定了本品 3 批样品中黄芩苷含量, 结果分别为 8.11, 5.53, 6.57 mg/片。

3 讨论

参照《中国药典》所使用的流动相^[1], 经反复试验和调整, 最后采用甲醇-水-醋酸 (46: 54: 1) 为流动相, 黄芩苷与相邻峰能达到基线分离, 所以确定采用甲醇-水-醋酸 (46: 54: 1) 为流动相。本品采用“水煮醇沉”工艺, 黄芩苷易溶于醇和水, 故选择 70% 乙醇作为提取溶剂; 对样品进行不同时间超声处理对

比, 结果超声处理 30 min 已经能够提取完全, 故供试品溶液的制备, 采用超声处理。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2005: 211, 213, 200.
- [2] 延卫东, 王瑞君, 何琰, 等. 黄芩苷的药理作用研究[J]. 陕西中医药, 2002, 23(12): 1129.
- [3] 吕武清, 龙新华. 中成药中的药材薄层色谱鉴别[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997: 513.

[责任编辑 顾雪竹]