

重参消炎胶囊质量标准研究

胥爱丽*, 毕晓黎, 张建军, 罗文汇
(广东省中医研究所, 广东 广州 510095)

[摘要] 目的: 建立重参消炎胶囊的质量标准。方法: 采用薄层色谱法对重参消炎胶囊中的重楼、当归、苦参进行定性鉴别; 采用高效液相色谱法测定制剂中苦参碱的含量, 色谱柱: NUCLEOSIL-NH₂(4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 柱; 流动相: 乙腈-无水乙醇-3% 磷酸溶液(80: 10: 10); 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 25 °C; 检测波长为 220 nm。结果: 重楼、当归、苦参特征斑点清晰, 分离度好, 阴性无干扰。苦参碱在 0.433 2~ 2.166 0 μg 范围内呈良好的线性关系, $r = 0.999 45$, 平均回收率为 100.54%, RSD = 1.85%。结论: 所建立的方法简便准确, 专属性、重复性好, 可作为重参消炎胶囊的质量控制标准。

[关键词] 重参消炎胶囊; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 苦参碱

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)12-0013-04

Study On Quality Standard For Chongshen Xiaoyan Capsule

XU Ai-li*, BI Xiao-li, ZHANG Jian-jun, LUO Wen-hui

(Guangdong Provincial Institute of Traditional Chinese Medicine, Guang zhou 510095, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the quality standard for chongshen xiaoyan capsule. **Methods:** Rhizoma Paridis, Radix Angelicae Sinensis and Radix Sophorae Flavescentis were identified by TLC; The content of matrine was determined by HPLC in this preparation. NUCLEOSIL-NH₂ column was used. The mobile phase was consisted of Acetonitrile-Ethanol-water with 3% phosphoric acid(80: 10: 10). The flow rate was 1.0 mL · min⁻¹ and column temperature was at 25 °C. The detection wave length was at 220 nm. **Results:** The spots on TLC plates were clear without indereference in the blank reference. The linear range of matrine was 0.433 2~ 2.166 0 μg, $r = 0.999 45$. The average recovery of matrine was 100.54% and RSD was 1.85%. **Conclusion:** The methods of identification and quantification is easy, accurate and reproducible. It can be used effectively for the quality control of this preparation.

[Key words] Chongshen Xiaoyan capsule; TLC; HPLC; Matrine

重参消炎胶囊主要由重楼、当归、苦参、赤芍、车前草等中药组成, 具有清热利湿止痛的功效, 临床证明其对各种妇科炎症具有良好的疗效。为了更好地控制重参消炎胶囊的质量, 本文通过实验制定了科学可靠的质量标准, 对保证临床用药的有效性和安全性具有一定的价值和意义。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪, DAD 检测器, 四

元梯度泵, G2170AA 数据处理系统; CAMAG TLC SCANNER III型薄层扫描仪(瑞士); CAMAG TLC SAMPLER 4型自动点样仪(瑞士); PBQ-II型薄层自动铺板器(重庆南岸实验电器厂); 电热恒温干燥箱: DHG-9070A(上海精宏实验设备有限公司); 电子天平: BP-221D Sartorius(德国); 电热恒温水浴锅: HWS-26(上海)。

苦参碱对照品(批号: 0805-20005)、重楼对照药材(批号: 121157-200402)、苦参对照药材(批号: 121019-200505)、当归对照药材(批号: 120927-200512)均购自中国药品生物制品检定所; 重参消炎胶囊由广东省第二中医院提供; 乙腈为色谱纯试剂

[收稿日期] 2009-04-08

[通讯作者] * 胥爱丽, Tel: (020) 83501292; E-mail: xal555@

163.com

(一级), 水为双蒸水, 其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别

2.1.1 重楼 TLC 鉴别^[1] 取重参消炎胶囊内容物 1 g, 加乙醇 10 mL, 加热回流 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加乙醇 2 mL 使溶解, 作为供试品溶液。取重楼对照药材 0.5 g, 加乙醇 10 mL, 同法制成重楼对照药材溶液。另取除重楼外其他几种药材适量, 同法制成重楼阴性对照液。参照薄层色谱法(中国药典一部附录 VI B) 试验, 吸取供试品 15 μ L, 对照药材溶液 10 μ L, 阴性对照溶液 15 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-甲醇-水(15:5:1) 的下层液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰, 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, 显相同颜色的荧光斑点, 阴性对照无干扰(见图 1)。

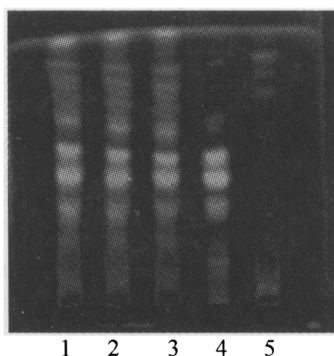


图 1

1~3. 供试品溶液; 4. 重楼对照药材溶液; 5. 阴性对照溶液

2.1.2 当归 TLC 鉴别^[1] 取重参消炎胶囊的内容物 0.5 g, 加乙醚 20 mL, 超声处理 10 min, 滤过, 滤液挥干, 残渣加乙醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。取当归对照药材 0.1 g, 同法制成当归对照药材溶液。另取除当归外其他几种药材适量, 同法制成当归阴性对照液。参照薄层色谱法(中国药典一部附录 VI B) 试验, 吸取供试品溶液 5 μ L, 对照药材溶液 15 μ L, 阴性对照液 5 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正己烷-乙酸乙酯(4:1) 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, 显相同颜色的荧光斑点, 阴性对照无干扰(见图 2)。

2.1.3 苦参 TLC 鉴别^[1] 取本品内容物 1 g, 加浓氨试液 0.3 mL、三氯甲烷 25 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加三氯甲烷 2 mL 使溶解, 作为供

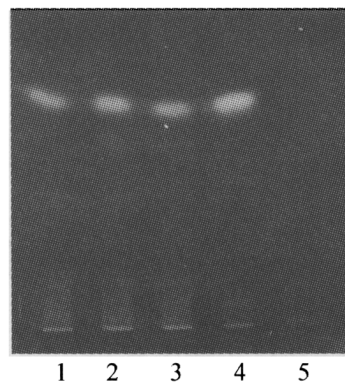


图 2

1~3. 供试品溶液; 4. 当归对照药材溶液; 5. 阴性对照溶液

试品溶液。取苦参对照药材 0.5 g, 同法制成苦参对照药材溶液。另取除苦参外其他三种药材适量, 同法制成苦参阴性对照液。参照薄层色谱法(中国药典一部附录 VI B) 试验, 吸取供试品溶液 4 μ L, 对照药材溶液 10 μ L, 阴性对照液 4 μ L, 分别点于同一用 2% 氢氧化钠溶液制备的硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-丙酮-甲醇(8:3:0.5) 为展开剂, 置氨蒸气饱和的展开缸内, 展开, 取出, 晾干, 喷以碘化铯钾试液。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 阴性对照无干扰(见图 3)。

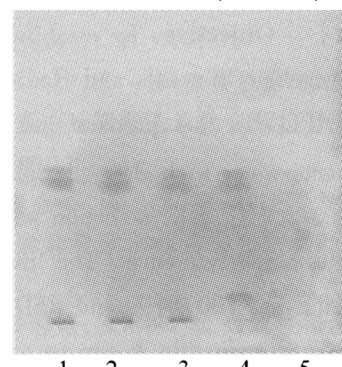


图 3

1~3. 供试品溶液; 4. 苦参对照药材溶液; 5. 阴性对照溶液

2.2 苦参碱含量测定

2.2.1 色谱条件^[1] 色谱柱: NUCLEOSIL-NH₂ (4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m) 柱; 流动相: 乙腈-无水乙醇-3% 磷酸(80:10:10); 检测波长为 220 nm; 流速: 1.0 mL \cdot mi⁻¹; 柱温: 25 $^{\circ}$ C。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取苦参碱对照品适量, 加乙腈-无水乙醇(80:20) 溶解, 制成每 1 mL 含苦参碱 0.216 6 mg 的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品粉末约 0.9 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加浓氨试液 0.5 mL, 精密加入三氯甲烷 20 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理(功

率 250 W, 频率 33 kHz) 30 min, 放冷, 再称定重量, 用三氯甲烷补足缺失的重量, 摇匀, 滤过。精密量取续滤液 5 mL, 通过中性氧化铝柱(100~200 目, 5 g, 内径 1 cm), 依次以三氯甲烷、三氯甲烷-甲醇(7:3) 各 20 mL 洗脱, 收集洗脱液, 回收溶剂至干, 残渣加无水乙醇适量使溶解, 并转移至 10 mL 量瓶中, 加无水乙醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.4 阴性对照溶液的制备 取处方中除苦参外其他药材, 按制剂工艺制备, 按 2.2.3 项下供试品溶液的制备方法制得供试品阴性对照溶液。分别取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各 5 μ L 进样, 记录色谱图。从图中可见, 苦参碱色谱峰峰形对称, 达到基线分离, 阴性对照溶液在苦参碱色谱峰处基本无干扰。结果见图 4。

2.2.5 线性范围的考察 分别精密吸取不同浓度苦参碱对照品溶液(每 1 mL 中含苦参碱分别为 86.64 μ g, 173.28 μ g, 259.92 μ g, 346.56 μ g, 433.20 μ g) 5 μ L 进行色谱测定, 按上述色谱条件测定峰面积, 并以峰面积(Y)对苦参碱含量(X)进行回归, 得标准曲线: $Y = 595.115 258X - 37.102 613$, $r = 0.999 45$ 。表明苦参碱在 0.433 2 μ g~2.166 0 μ g 范围内呈良好的线性关系。

2.2.6 精密度试验 精密吸取对照品溶液(0.216 6 mg·mL⁻¹) 5 μ L 重复进样 6 次, 测得峰面积积分值的 RSD 为 1.59%, 表明仪器精密度良好。

2.2.7 稳定性试验 取样品供试液(批号 090101)

分别于 0, 2, 4, 6, 8 h 进样 5 μ L, 测得样品中苦参碱峰面积值的 RSD 为 1.96%, 表明样品供试液在 8 h 内稳定。

2.2.8 重复性试验 按拟定的含量测定方法, 取同一批样品(批号: 090101) 5 份, 分别制备供试液, 测得峰面积并计算含量, 结果供试品中苦参碱的 RSD 为 1.26%。

2.2.9 回收率试验 取已知苦参碱含量的同一批号样品(090101) 6 份, 置锥形瓶中, 再分别精密加入苦参碱对照品溶液适量, 挥干溶剂, 按上述供试品制备方法, 制备加样回收供试品溶液并注入高效液相色谱仪, 按上述色谱条件测试, 结果苦参碱的平均回收率为 100.54%, RSD 为 1.85%, 结果见表 1。

表 1 苦参碱回收率试验结果

序号	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	5.731 74	4.63	10.423 32	101.33	100.54	1.85
2	6.154 33	4.63	10.965 44	103.91		
3	5.846 04	5.58	11.429 44	100.06		
4	5.960 58	5.58	11.489 24	99.08		
5	6.283 84	6.62	12.895 88	99.88		
6	6.131 35	6.62	12.683 28	98.97		

2.2.10 样品的测定 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 5 μ L, 按上述色谱条件进行测定, 结果苦参碱含量(mg·g⁻¹) 分别为 11.47, 11.96, 11.59。

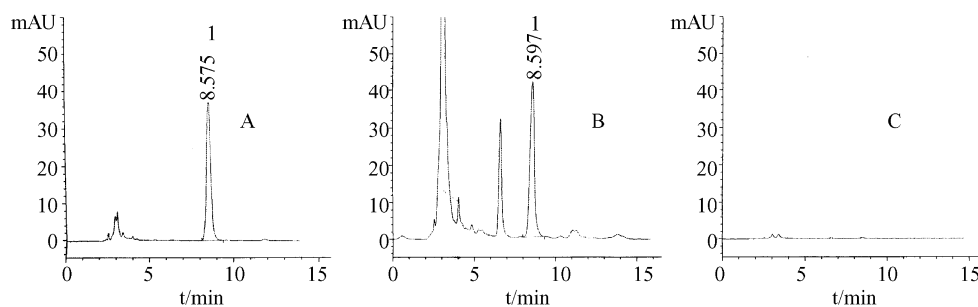


图 4 重参消炎胶囊 HPLC 色谱图

A. 苦参碱对照品; B. 供试品; C. 阴性对照样品; 1. 苦参碱

3 讨论

曾参照《中国药典》2005 年版苦参【鉴别】项下方法对苦参进行薄层鉴别, 结果斑点 R_f 值较低, 有明显的拖尾现象, 成分未能完全分离。在此方法基础上, 直接采用展开剂甲苯-丙酮-甲醇(8:3:0.5), 并用氨蒸气饱和, 再显色, 结果所得斑点清晰, 分离度好, 且没有拖尾现象。

当归中挥发油含量可达 0.4%, 主要为藁本内酯等内酯成分。本实验采用低极性的乙醚作为提取溶剂, 提取其脂溶性成分, 所得样品及药材供试液呈现出清晰的色谱斑点。

在对本复方制剂的研究过程中发现, 苦参原料药材中氧化苦参碱的含量远大于苦参碱的含量, 而制成复方制剂后, 苦参碱的含量却远大于氧化苦参

碱。查阅相关文献得知,苦参药材入药后苦参碱与氧化苦参碱存在相互转化关系,含苦参药材的复方水煮后,苦参碱的含量远高于氧化苦参碱,并随着时间的延长比例显著的增大^[2]。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005: 183.
- [2] 贾敏鸽, 孙文基. 苦参及其复方中苦参碱与氧化苦参碱的转化研究[J]. 药物分析杂志, 2003, 23 (2) : 90-94.