

蒿秦风湿胶囊的质量研究

孙凤利¹, 杨立新^{2*}, 崔淑莲²

(1. 北京怀柔区第一医院, 北京 101400; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 制定复方蒿秦风湿胶囊质量标准。方法: 采用薄层色谱法对制剂中的青蒿、秦艽、地黄进行TLC鉴别; 采用高效液相色谱法测定制剂中的青蒿素含量。结果: 青蒿素的回归方程 $Y = -0.876X + 1606.24$, $r = 0.9999$, 平均回收率97.4%, 重复性RSD为2.44%。结论: 青蒿、秦艽、地黄的TLC鉴别具有专属性; 青蒿素的测定方法稳定, 重复性好, 可作为蒿秦风湿胶囊质量控制方法。

[关键词] 蒿秦风湿胶囊; 青蒿素; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2009)05-0015-03

蒿秦风湿胶囊是由青蒿、秦艽、地黄等中药组成, 具有清热除湿、消肿止痛。适用于类风湿关节炎湿热痹阻证。为保证药物的安全性、有效性和可控性, 对制剂质量进行研究, 建立了3味药材的薄层鉴别, 对制剂青蒿中有效成分青蒿素, 采用高效液相色谱法进行含量测定, 并进行了方法学研究。

1 仪器与试剂

美国HP1100高效液相色谱仪, G1311A四元泵, G1313A自动进样器, G1316A柱温箱, G1315A二极管矩阵检测器, HPCHEM色谱工作站。对照品青蒿素Artemisinin(100202-200402)购自中国药品生物制品检定所。甲醇为色谱纯(天津市四友生物医学技术有限公司), 磷酸氢二钠、磷酸二氢钠(北京红星化工厂), 高纯水。

2 定性鉴别

2.1 青蒿 取本品内容物1g, 研细, 加石油醚60~90℃50mL, 加热回流1h, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加正己烷30mL使溶解, 用20%乙腈溶液振摇提取3次, 每次10mL, 合并乙腈液, 蒸干, 残渣加乙醇0.5mL使溶解, 作为供试品溶液。另取青蒿对照药材3g, 同法制成对照药材溶液。再取青蒿素对照品, 加乙醇制成每1mL含1mg的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法试验, 吸取上述三种溶液各5μL, 分别点于同一硅胶G薄层板上, 以石油醚(60~90℃)-乙

醚(3:2)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以10%硫酸乙醇溶液, 在80℃加热至斑点显色清晰, 置紫外光灯(365nm)下检视。供试品色谱中, 在与对照药材和对照品色谱相应的位置上, 分别显相同颜色的荧光斑点。

2.2 秦艽 取本品内容物1g, 研细, 加乙醚20mL, 冷浸1h, 滤过, 弃去乙醚液, 残渣加甲醇20mL, 超声处理20min, 滤过, 滤液浓缩至4mL, 作为供试品溶液。另取龙胆苦苷对照品, 加甲醇制成每1mL含2mg的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法试验, 吸取上述两种溶液各1μL, 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶GF254薄层板上, 以乙酸乙酯-甲醇-水(20:2:1)为展开剂, 展开2次, 取出, 晾干, 置紫外光灯(254nm)下检视。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。

2.3 地黄 取本品内容物1g, 研细, 置索氏提取器中, 加乙醚加热回流1h, 弃去乙醚液, 药渣晾干, 加85%乙醇20mL, 超声处理20min, 滤过, 滤液作为供试品溶液。另取地黄对照药材1.5g同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法试验, 吸取上述两种溶液各2μL, 分别点于同一硅胶G(MERCK)薄层板上, 以正丁醇-异丙醇-水(4:5:6)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以2%苯胺丙酮溶液-2%二苯胺丙酮溶液-磷酸(5:5:1), 在105℃加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。

3 含量测定

3.1 色谱条件 色谱柱: ZORBAX RX-C₁₈(4.6mm ×

[收稿日期] 2008-08-20

[通讯作者] * 杨立新, Tel: (010) 84042451; E-mail: aybLcx@

126.com

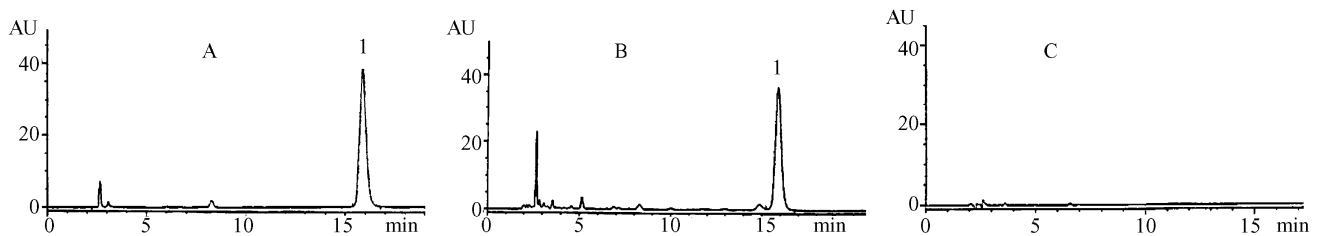


图 1 蒿秦风湿胶囊的高效液相色谱图

a. 对照品溶液; b. 供试品溶液; c. 空白溶液; 1. 青蒿素

250 mm, 5 μ m), 流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 检测波长 260 nm, 柱温 $35 \text{ }^\circ\text{C}$, 流动相: $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲溶液[水-甲醇(55: 45)]

3.2 标准曲线的制备 取干燥至恒重的青蒿素对照品适量, 精密称定, 加乙醇制成每 1 mL 含 0.824 mg 的溶液。精密吸取 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL 分别置 10 mL 量瓶中, 补充乙醇至 1 mL, 加 0.2% 氢氧化钠溶液 4 mL, 摇匀, 于 $45 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴中反应 30 min, 取出, 立即冷却至室温, 加 $0.08 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸溶液至刻度, 摇匀。分别精密吸取 10 μ L, 注入液相色谱仪, 连续进样 2 次, 测定峰面积, 以对照品进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 其回归方程为 $Y = -0.876X + 1.60 \times 10^3$, $r = 0.9999$, 结果表明, 青蒿素在 $0.0824 \sim 0.824 \mu\text{g}$ 范围内线性良好。

3.2.1 对照品溶液的制备 精密称取青蒿素对照品适量, 加乙醇制成每 1 mL 含 1.036 mg 的溶液。精密量取 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加 0.2% 氢氧化钠溶液 4 mL, 摇匀, 于 $45 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴中水解 30 min, 取出, 立即冷却至室温, 加 $0.08 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸溶液至刻度, 摇匀。即得。

3.2.2 供试品溶液的制备 供试品溶液的制备取装量差异项下的本品内容物, 研细, 约 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加石油醚($60 \sim 90 \text{ }^\circ\text{C}$) 50 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理(功率 250 W, 频率 20 kHz) 30 min, 放冷, 再称定重量, 用石油醚($60 \sim 90 \text{ }^\circ\text{C}$) 补足缺失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液 25 mL, 蒸干, 残渣加乙醇使溶解, 转移至 10 mL 量瓶中, 加乙醇稀释至刻度, 摇匀。精密量取 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加 0.2% 氢氧化钠溶液 4 mL, 摇匀, 于 $45 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴中水解 30 min, 取出, 立即冷却至室温, 加 $0.08 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸溶液至刻度, 摇匀。用微孔滤膜($0.45 \mu\text{m}$) 滤过, 即得。

3.3 阴性对照溶液的制备 按处方组成, 取不含青蒿的群药, 按制备工艺制成不含青蒿的样品, 按 3.2.2 项下的方法制成阴性对照溶液, 结果样品中青

蒿素与其它组分色谱峰能达到基线分离, 阴性对照液中色谱峰对测定无干扰。

3.4 精密度试验 精密吸取供试品溶液, 按上述色谱条件进样 20 μ L, 重复进样 5 次, 定峰面积值, 计算 $\text{RSD} = 1.52\%$ 。表明仪器精密度良好。

3.5 稳定性考察 取供试品分别于 0, 1, 2, 4, 6, 24 h 测定青蒿素峰面积值, 计算其 RSD 为 1.78%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

3.6 重复性试验 取同一批样品 5 份, 按 3.2.2 项下方法制备的供试品溶液, 按上述色谱条件测定含量, 结果青蒿素的平均含量 1.76 mg/粒 , RSD 为 2.80% ($n = 5$)。

3.7 回收率试验 精密称取已知含量(2.06 mg/粒 即 $5.15 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) 同一批样品 5 份, 每份约 0.5 g, 精密称定, 分别精密加入青蒿素对照品适量, 按 3.2.2 项下方法制备供试品溶液, 测定, 计算回收率, 结果平均回收率为 97.4%, 相对标准偏差为 2.44% ($n = 5$)。见表 1。

表 1 加样回收率 ($n = 6$)

称样量 (g)	样品中含量 (mg)	加入量 (mg)	测定总量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.5069	2.6105	2.61	5.1436	97.05		
0.5136	2.6450	3.76	6.4628	101.53		
0.5090	2.6213	3.20	5.6741	95.40	97.40	2.44
0.5049	2.6002	2.50	5.0111	96.43		
0.5091	2.6218	2.50	5.0371	96.61		

3.8 样品测定 分别精密吸取对照品溶液 5 μ L 与供试品溶液 20 μ L, 注入液相色谱仪, 按照外标法计算三批样品青蒿素含量为 1.73, 1.71, 1.62 mg/粒。

4 讨论

4.1 定性鉴别 参考文献^[1] 确定了青蒿的鉴别方法, 以青蒿对照药材作对照, 使鉴别更具专属性。

4.2 色谱条件选择 参考文献^[2] 确定了以 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲溶液[水-甲醇(55: 45)] 作为流动相。分离效果较满意。

4.3 本文采用高效液相色谱法测定青蒿植物中青蒿素含量的方法。在索氏提取器上用石油醚提取样品,青蒿素经碱反应后,酸化形成稳定的 Q260 形式,然后在 ODS 反相柱上,以 $0.01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲溶液[水-甲醇(55:45)]作为流动相。波长 260 nm,使用紫外检测器测定。应用文献方法测定了蒿秦风湿胶囊中青蒿素的含量,通过对不同溶剂石油醚,乙酸乙酯,三氯甲烷,不同提取方式加热回流、冷浸、超声处理以及提取时间的比较,结果

表明以石油醚超声处理 30 min 青蒿素含量最高,从而制定了正文中青蒿素含量测定方法。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 2005: 222, 附录 VI B.
- [2] 赵世善, 曾美怡. 高效液相色谱法测定青蒿植物中的青蒿素[J]. 《药物分析杂志》1986, 6(1): 3.