

千柏鼻炎片质量标准的研究

黄松^{1,2*}, 陶艳^{1,2}, 陈吉航^{1,2}, 赵薇^{1,2}, 罗明珩^{1,2}

(1. 广州中医药大学, 广东 广州 510006;

2. 东莞广州中医药大学中医药数理工程研究院, 广东 东莞 523808)

[摘要] 目的: 建立千柏鼻炎片的质量标准, 以更好控制产品质量。方法: 采用薄层色谱法进行千柏鼻炎片中千里光、决明子、麻黄的鉴别; 采用高效液相色谱法测定大黄酚的含量。结果: 薄层色谱法可检出千里光、决明子、麻黄, 斑点清晰, 阴性对照无干扰, 专属性强。大黄酚在 0.054~0.54 μg 范围内线性良好, 加样回收率为 97.54%, RSD 为 1.57%; 结论: 质控方法操作简单, 可以用来评价千柏鼻炎片质量。

[关键词] 千柏鼻炎片; 大黄酚; 薄层色谱; 高效液相

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)10-0017-04

Study on Quality Standard of Qianbai Biyan Tablets

HUANG Song^{1,2*}, TAO Yan^{1,2}, CHEN Ji-hang^{1,2}, ZHAO Wei^{1,2}, LUO Ming-li^{1,2}

(1. Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510006, China; 2. Dongguan Mathematical

Engineering Academy of Chinese Medicine, Guangzhou University of TCM, Dongguan 523808, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the quality standard for Qianbai Biyan Tablets for better product quality control. **Methods:** Climbing groundsel, Semen cassiae, Herba ephedrae were identified by TLC. The content of chrysophanol was determined by HPLC. **Results:** Climbing groundsel, Semen cassiae, Herba ephedrae were identified by TLC, the spots were clear without interference. The content of chrysophanol was detected by HPLC, with good linearity between 0.054~0.54 μg. The average recovery of chrysophanol was 97.54%, and RSD was 1.57%, respectively. **Conclusion:** The method developed is accurate and the reproducibility is good. The method can be used to control the quality of Qianbai Biyan Tablets.

[Key words] Qianbai biyan tablets; chrysophanol; TLC; HPLC

千柏鼻炎片由千里光、卷柏、决明子、麻黄、羌活、川芎及白芷组成, 具有清热解毒, 活血祛风, 宣肺通窍的功效, 用于风热犯肺, 内郁化火, 凝滞气血所致的鼻塞, 鼻痒气热, 流涕黄稠, 或鼻塞无歇, 嗅觉迟钝, 急、慢性鼻炎, 急、慢性鼻窦炎等症。千柏鼻炎片是部颁标准收载品种, 标准编号为 WS3-B-0884-91。部颁标准中仅对千柏鼻炎片中生物碱类、蒽醌类等成分进行理化鉴别及对千里光进行薄层鉴别, 没有含

量测定, 而本文在保留千里光薄层鉴别的基础上, 建立了千柏鼻炎片中决明子、麻黄的 TLC 鉴别以及大黄酚的 HPLC 测定方法, 为更好的控制千柏鼻炎片的质量提供了一种简便、可行、重复性好的质量控制方法, 以保证临床疗效的稳定性。

1 材料

1.1 仪器 HP1100 高效液相色谱仪 (G1322A Degasser, G1311A QuatPump, G1313A ALS, G1316A COLCOM, G1315A DAD) HP ChemStation 色谱工作站; 赛多利斯万分之一电子天平 (德国); 电子数控式恒温水浴锅 (江苏昆山医用设备厂)。

1.2 样品和试剂 千柏鼻炎片: 广东康尔丹制药有

[收稿日期] 2009-03-12

[通讯作者] * 黄松, Tel: (020) 32503212; E-mail: hsl318@yahoo.com.cn

限公司提供(批号 040705, 040706, 040707); 大黄酚(供含量测定用, 批号: 0796-20006), 盐酸麻黄碱(供薄层鉴别用, 批号: 0796-200006) 等对照品, 均由中国药品生物制品检定所提供; 供色谱分析用甲醇试剂为色谱纯, 水为超纯水; 其余化学试剂均为分析纯。

2 方法和结果

2.1 薄层鉴别

2.1.1 千里光的鉴别 取本品 10 片, 除去薄膜衣, 研细, 加乙醇 25 mL, 置水浴加热回流 1 h, 滤过, 滤液浓缩至近干, 加乙醇 2 mL 使溶解, 作为供试品溶液; 同法制成缺千里光阴性对照溶液、对照药材溶液。照薄层色谱法(中国药典 2005 版附录 VIB) 试验, 吸取上述两种溶液各 3 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-醋酸乙酯-甲酸(5: 4: 1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以三氯化铁试液。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, 阴性无干扰, 见图 1。

2.1.2 决明子的鉴别 取千里光鉴别项下剩余的乙醇回流滤液, 蒸干, 残渣加水 10 mL 使溶解, 再加盐酸 1 mL, 置水浴上加热 30 min, 立即冷却, 用乙醚提取 2 次, 每次 20 mL, 合并乙醚液, 蒸干, 残渣加三氯甲烷 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液; 同法制备决明子对照药材溶液、缺决明子阴性对照溶液; 再取大黄酚对照品加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2005 版附录 VIB) 试验, 吸取上述供试品溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 H 薄层板上, 以石油醚(30~ 60 $^{\circ}$ C)-甲酸乙酯-甲酸(15: 5: 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, 与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点, 阴性无干扰, 见图 2。

2.1.3 麻黄的鉴别 取本品 20 片, 除去薄膜衣, 研细, 加浓氨试液 1 mL, 加三氯甲烷 20 mL, 置水浴上回流 1 h, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液; 同法制备麻黄对照药材溶液、缺麻黄阴性对照溶液; 再取盐酸麻黄碱对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2005 版附录 VIB) 试验, 吸取上述供试品溶液各 4 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-甲醇-浓氨试液(20: 5: 0.5) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以茚三酮试液, 在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 分别在对照

药材色谱及对照品色谱相应的位置上, 显相同的红色斑点, 阴性无干扰, 见图 3。

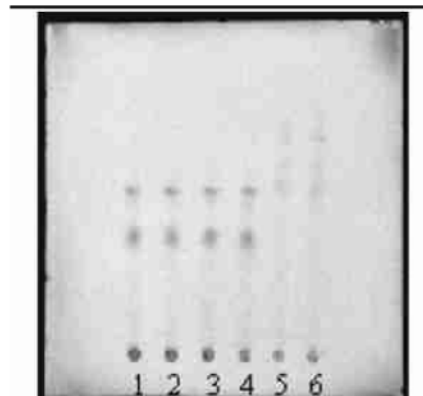


图 1 千里光薄层鉴别图谱

1-3: 供试品; 4: 千里光对照药材; 5-6: 阴性



图 2 决明子薄层鉴别图谱

1-3: 供试品; 4: 阴性; 5-6: 决明子对照药材

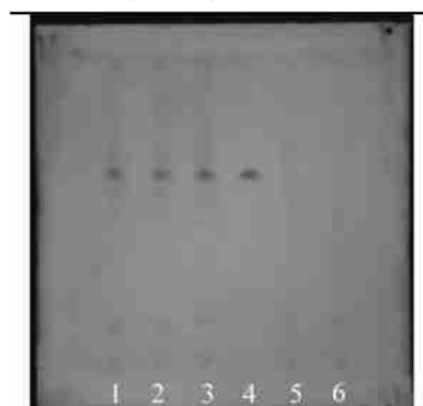


图 3 麻黄薄层鉴别图谱

1-3: 供试品; 4: 盐酸麻黄碱; 5-6: 阴性

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱: Phenomenex luna C₁₈(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-0.1% 磷酸溶液(85: 15); 检测波长为 254 nm; 流速: 1.0 mL \cdot min⁻¹; 柱温: 25 $^{\circ}$ C。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取对照品大黄酚适量, 用无水乙醇-乙酸乙酯(2: 1) 溶解定容, 制成浓度为 0.108 mg \cdot mL⁻¹ 的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品 20 片, 除去薄

膜, 研细, 取 0.5 g, 精密称定, 置圆底烧瓶中, 加甲醇 100 mL 加热回流 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 加 10% (V/V) 盐酸溶液 150 mL, 置水浴中加热水解 1 h, 立即冷却, 用三氯甲烷振摇提取 4 次, 每次 30 mL, 合并氯仿液, 置水浴上蒸干, 残渣用无水乙醇-乙酸乙酯(2:1) 溶解, 移置 5 mL 量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.4 专属性试验 按处方比例称取除决明子外的其它药材, 按千柏鼻炎片的制备工艺和供试品溶液的制备方法制备阴性溶液。取对照品溶液、供试品溶液和阴性溶液按上述色谱条件各进样 5 μ L 测定, 结果表明, 阴性无干扰。结果见图 4。

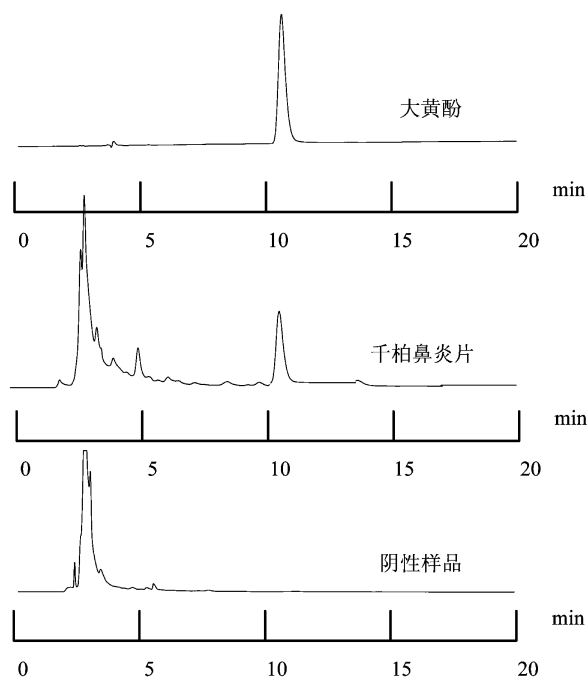


图 4 千柏鼻炎片中大黄酚的 HPLC 图

2.2.5 线性关系 取大黄酚对照品溶液(0.108 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), 自动进样 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 μ L, 按上述色谱条件测定峰面积, 以进样量($X, \mu\text{g}$) 对峰面积($Y, \text{mAu} \cdot \text{Sec}$) 进行线性回归, 得标准曲线, 回归方程为 $Y = 530.99X - 11.30$, $r = 0.9999$; 大黄酚在 0.054 ~ 0.54 μg 内线性关系良好。标准曲线经过原点, 可采用一点法简化测定。

2.2.6 精密度试验 取浓度为 0.108 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的大黄酚对照品溶液, 重复进样 6 次, 每次 2 μ L, 按上述色谱条件测定峰面积, 结果 $\text{RSD} = 0.72\%$, 精密度符合要求。

2.2.7 稳定性试验 分别吸取对照品溶液 2 μ L 及供试品溶液 20 μ L, 分别于 0, 2, 4, 8, 12 h 按上述色谱条件测定 5 次, 对照品及供试品峰面积的 RSD 分别为 0.61% 和 0.21%, 表明 12 h 内稳定。

2.2.8 重复性试验 按上述的含量测定方法, 对同一批样品(批号: 040705) 制备供试液, 平行做 5 份, 测得峰面积, 计算含量, 结果 $\text{RSD} = 2.34\%$ 。

2.2.9 加样回收率试验 取已知含量的千柏鼻炎片粉约 0.5 g(批号: 040705), 精密称定; 分别按其含量的 80%, 100%, 120% 精密加入大黄酚对照品溶液(0.108 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 适量, 按供试品溶液制备项下操作, 各平行做 3 份。按色谱条件测定峰面积, 计算含量, 回收率 = (含量实测值 - 样品含量值) / 标准品加入量 $\times 100\%$, 结果见表 1。

表 1 大黄酚回收率测定结果

实验号	称样量 (g)	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得值 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.5001	0.211	0.162	0.370	98.71		
2	0.5000	0.211	0.162	0.368	96.94	99.00	2.24
3	0.4998	0.211	0.162	0.375	101.35		
1	0.5002	0.211	0.216	0.424	98.67		
2	0.5005	0.211	0.216	0.418	95.94	97.19	1.42
3	0.4999	0.211	0.216	0.420	96.94		
1	0.5004	0.211	0.259	0.459	95.92		
2	0.5002	0.211	0.259	0.463	97.57	96.42	1.04
3	0.4998	0.211	0.259	0.459	95.77		

2.2.10 样品测定 按供试品溶液制备方法和色谱条件对 3 批样品(批号: 040705, 040706, 040707) 按上述色谱条件测定分析, 并计算含量, 每份样品测定 3 次取平均值, 结果大黄酚含量 ($\text{mg}/\text{片}$) 分别为: 0.097, 0.072, 0.065。

3 讨论

千柏鼻炎片由千里光、卷柏、决明子、麻黄、羌活、川芎及白芷 7 种中药制成。方中千里光及卷柏用量大, 但没有相关有效成分的对照品, 不宜进行含量测定; 决明子用量也较大, 其有效成分含大黄酚, 因此采用高效液相色谱法对大黄酚进行测定。

因成品所含大黄酚既有结合型, 又有游离型。本实验将结合型大黄酚通过水解转变为游离型, 提高测定方法的准确性与稳定性, 为高效液相含量测定所测定。

供试品溶液制备方法参照文献, 以甲醇回流提取, 滤过, 滤液蒸干, 残渣以 10% (V/V) 盐酸溶液水解后, 溶液以氯仿提取, 氯仿提取液蒸干, 残渣以无水乙醇-乙酸乙酯(2:1) 溶解定容制备供试液。其中主要考察水解溶媒用量以及水解时间: 分别向甲醇提取液蒸干残渣中加入水解溶媒 30, 60, 90, 120,

150, 200 mL 加热水解 1 h 制得的样品进行 HPLC, 结果表明当水解溶媒用量体积为 150, 200 mL 时, 含量最高, 且两者差异不大, 为节省溶媒, 所以确定水解溶媒用量为 150 mL; 水浴中加热水解考察时间为 0.5, 1, 1.5, 2 h, 大黄酚含量在水解 1 h 后最高, 水解 0.5 h 含量较低, 水解 1.5, 2 h 含量呈下降趋势, 提示 0.5 h 水解不完全, 而水解 1.5 及 2 h, 大黄酚破坏较多。故确定水解时间为 1h 结果表明水解溶媒用量为 150 mL, 水解时间为 1 h, 大黄酚破坏较少。

[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, 2000: 98, 223.
- [2] 李 琼. 麻仁润肠丸及大黄药材中结合与游离大黄素

的含量分析[J]. 中成药, 1998, 20(10): 468.

- [3] 张 云, 宋旭峰. 高效液相色谱法测定轻身减肥片中大黄素与大黄酚的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2002, 8(5): 4.
- [4] 曹爱民, 张振学. 液相色谱法测定决明子中大黄酚的含量[J]. 中国中药杂志, 1997, 22(2): 107-108.
- [5] 宋庆珍. 止咳化痰片中麻黄甘草陈皮的薄层色谱鉴别[J]. 中医药学刊, 2005, 23(5): 920.
- [6] 吴启端, 王淑英, 林双峰, 等. 舒金克喘胶囊中麻黄、牡荆油、红参的薄层鉴别研究[J]. 时珍国医国药, 2005, 16(12): 1283-1284.
- [7] 黄荣芳, 韦家福. 千柏鼻炎片中千里光薄层鉴别方法的改进[J]. 药品评价, 2004, 1(2): 127.
- [8] 瞿发林, 徐明富. 决明降脂茶质控标准的研究[J]. 中国药师, 2003, 6(11): 705-706.