

# 痔疮消胶囊质量标准研究

谭朝阳<sup>1\*</sup>, 谭智艳<sup>2</sup>, 罗怀浩<sup>1</sup>

(1. 湖南中医药大学药学院, 湖南长沙 410208; 2. 郴州市药品检验所, 湖南郴州 423000)

**[摘要]** 目的: 建立痔疮消胶囊的质量标准。方法: 采用TLC法对方中槐花、金银花、地榆、三七、白芍进行薄层鉴别, 并采用HPLC法对制剂中槐花所含芦丁进行了含量测定。结果: 槐花、金银花、地榆、三七、白芍的TLC结果好, 阴性无干扰。芦丁在0.22~1.08 μg范围内具有良好的线性关系, 相关系数 $r=0.9999$ , 平均加样回收率100.22%, RSD为1.49% ( $n=5$ )。结论: 所建立的方法可准确地进行定性、定量测定, 可用于该制剂的质量控制。

**[关键词]** 痔疮消胶囊; 芦丁; 高效液相色谱法; 质量标准

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2009)01-0020-03

痔疮消胶囊系由火麻仁、槐花、金银花、地榆、白芍、三七等十味药组成的复方制剂, 系由《卫生部药品标准中药成方制剂》第十二册收载的痔疮消颗粒改成胶囊剂, 具清热解毒, 润肠通便, 止血, 止痛, 消肿之功效, 用于痔疮发炎肿痛、肛裂疼痛及痔疮手术后大便困难、便血及老年人便秘等<sup>[1]</sup>。为了更好地控制本品的质量, 本文采用薄层色谱法对方中槐花、金银花、地榆、三七、白芍等药味进行了薄层色谱鉴别, 并利用高效液相色谱法测定了本品中芦丁的含量。

## 1 仪器与试剂

岛津LC-10ATvp高效液相色谱仪(日本岛津公司); N-3000色谱工作站(浙江大学); ZF-1型三用紫外分析仪(上海顾村电光仪器厂); 硅胶G(青岛海洋化工厂); 硅胶G薄层板(自制); 水为重蒸水, 甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

芦丁对照品(含量测定用, 批号: 0080-200306)、没食子酸对照品(鉴别用, 批号: 0831-9501)、绿原酸对照品(含量测定用, 批号: 0753-200210)、芍药苷对照品(含量测定用, 批号: 0736-200217)、三七对照药材(鉴别用, 批号: 0941-9803)均由中国药品生物制品检定所提供。痔疮消胶囊由湖南药圣堂制药有限公司提供。

## 2 薄层鉴别

**2.1 槐花的TLC鉴别** 取本品内容物2g, 加甲醇30 mL, 置水浴上加热回流1h, 滤过, 滤液浓缩至约2 mL。另取芦丁对照品, 加甲醇制成每1 mL中含0.5 mg的溶液, 作为对照品溶液。再取除槐花外的其他处方量药材, 按制备工艺制成缺槐花的阴性样品, 同供试品溶液制备法制成阴性溶液。吸取上述三种溶液各2 μL, 分别点于同一硅胶G薄层板上, 以乙酸乙酯-甲酸-水(8:1:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以三氯化铝试液, 100℃烘约5 min, 置紫外光灯(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, 缺槐花的阴性对照色谱中无此斑点。

**2.2 地榆的TLC鉴别** 取2.1项下的供试品溶液作为供试品溶液, 另取没食子酸对照品, 加甲醇制成每1 mL中含1 mg的溶液, 作为对照品溶液。再取除地榆外的其他处方量药材, 按制备工艺制成缺地榆的阴性样品, 同供试品溶液制备法制成阴性溶液。吸取上述供试品溶液、阴性溶液各10 μL及对照品溶液3 μL, 分别点于同一硅胶G薄层板上, 以乙酸丁酯-甲酸-水(7:2.5:2.5)的上层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以5%三氯化铁乙醇试液。供试品色谱中, 在与没食子酸对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 缺地榆的阴性对照色谱中无此斑点。

**2.3 金银花的TLC鉴别** 取2.1项下的供试品溶液作为供试品溶液, 另取绿原酸对照品, 加甲醇制成每1 mL中含1 mg的溶液, 作为对照品溶液。再取除金银花外的其他处方量药材, 按制备工艺制成缺金银花的阴性样品, 同供试品溶液制备法制成阴性

[收稿日期] 2008-06-11

[通讯作者] \* 谭朝阳, Tel: (0731) 8458225; E-mail: tomtzy@163.com

溶液。吸取上述供试品溶液、阴性溶液各 10  $\mu$ L 及对照品溶液 3  $\mu$ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以乙酸丁酯-甲酸-水(7: 2.5: 2.5) 的上层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365 nm) 下检视, 供试品色谱中, 在与绿原酸对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点, 缺金银花的阴性对照色谱中无此斑点。

**2.4 三七的 TLC 鉴别** 取本品内容物 10 g, 加甲醇 50 mL, 超声处理 15 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 20 mL 使溶解, 用水饱和的正丁醇振摇提取 2 次, 每次 25 mL, 合并正丁醇液, 用水 15 mL 洗涤, 弃去水洗液, 正丁醇液置水浴上蒸干, 残渣用甲醇 5 mL 使溶解, 转移至中性氧化铝柱上(100~ 200 目, 5 g, 内径 10~ 15 mm), 用 40% 甲醇 100 mL 洗脱, 收集洗脱液, 置水浴上蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取三七对照药材 0.5 g, 同法制成对照药材溶液。再取除三七外的其他处方量药材, 按制备工艺制成缺三七的阴性样品, 同法制成缺三七的阴性溶液。吸取上述 3 种溶液各 5  $\mu$ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-甲醇-水(13: 7: 2) 10  $^{\circ}$ C 以下放置的下层溶液为展开剂, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 在 105  $^{\circ}$ C 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, 缺三七的阴性对照色谱中无相应斑点干扰。

**2.5 白芍的 TLC 鉴别** 取 2.4 项下的供试品溶液作为供试品溶液。另取芍药苷对照品, 加乙醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液, 作为对照品溶液。再取除白芍外的其他处方量药材, 按制备工艺制成缺白芍的阴性样品, 同法制成缺白芍的阴性溶液。吸取上述 3 种溶液各 10  $\mu$ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(40: 5: 10: 0.2) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 香草醛硫酸溶液, 加热至斑点显色清晰。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, 缺白芍的阴性对照色谱中无斑点干扰。

### 3 含量测定

**3.1 色谱条件** 色谱柱: Kromasil C<sub>18</sub>(250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m); 流动相: 甲醇-0.1% 磷酸溶液(40: 60); 检测波长: 350 nm; 流速: 1.0 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>; 柱温: 30  $^{\circ}$ C; 进样量: 10  $\mu$ L。

**3.2 线性关系的考察** 精密吸取浓度为 0.108 mg  $\cdot$

mL<sup>-1</sup> 的芦丁对照品溶液 1, 2, 3, 4, 5 mL, 分别置 5 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 精密吸取 10  $\mu$ L 进样, 测定其峰面积积分值, 以浓度为横坐标, 峰面积积分为纵坐标, 绘制标准曲线, 其芦丁回归方程为:  $A = 1.29 \times 10^6 C - 2.86 \times 10^3$ ,  $r = 0.9999$ 。结果表明芦丁在 0.22~ 1.08  $\mu$ g 范围内具有良好的线性关系。

**3.3 稳定性试验** 分别精密吸取同一份供试品溶液, 于 0.3, 0.6, 0.9, 1.2 h 进样, 测定芦丁峰峰面积积分值, 结果表明, 12 h 内峰面积积分值无大的变化, RSD 为 0.36%。

**3.4 精密度试验** 精密吸取同一份供试品溶液, 重复进样 5 次, 测定芦丁峰峰面积积分值, 其 RSD 为 0.22%。

**3.5 重复性试验** 对取同一批样品(20050415) 5 份, 平行提取 5 份, 测定芦丁平均含量为 4.05 mg/粒, RSD 为 1.22%。

**3.6 加样回收试验** 精密称取已测定含量的同一批号的样品(20050415) 5 份, 每份 0.5 g, 分别精密加入浓度为 0.504 mg  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> 芦丁对照品溶液 10 mL, 再加精密加入甲醇 40 mL, 按 3.7 项下含量测定方法依法处理, 测定含量, 并计算回收率, 结果见表 1, 芦丁的平均加样回收率为 100.22%, RSD 为 1.49%。

表 1 加样回收率测定结果

取样量(g)	样品中含芦丁的量(mg)	加入芦丁量(mg)	实测芦丁总量(mg)	回收率(%)
0.5046	5.0895	5.04	10.2097	101.59
0.5037	5.0804	5.04	10.1987	101.55
0.5057	5.1006	5.04	10.0385	97.97
0.5024	5.0673	5.04	10.1213	100.28
0.5018	5.0613	5.04	10.0875	99.73

**3.7 样品测定** 取本品 10 粒的内容物, 混匀, 取约 1 g, 精密称定, 精密加入甲醇 50 mL, 称定重量, 超声处理 30 min, 放冷, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 精量续滤液 2 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 取续滤液, 用微孔滤膜(0.45  $\mu$ m) 滤过, 注入高效液相色谱仪进行测定, 按外标法进行计算, 三批胶囊含量分别为 4.0, 4.0, 3.9 mg/粒。

### 4 讨论

本品系十味中药组成的复方制剂, 成分较复杂, 原颗粒剂质量标准较简单, 仅有槐花、金银花、地榆、三七的薄层鉴别, 而无含量测定方法, 通过试验研究, 对原有的薄层方法进行了修改。如原三七薄层

鉴别中,供试品制备未经过中性氧化铝柱,薄层结果不清晰,色带干扰较大,经改进后,色带干扰大大减轻。经试验研究后,所建立的槐花、金银花、地榆、三七、白芍的TLC鉴别方法,薄层斑点清晰,分离较好,且阴性无干扰,可作为痔疮消胶囊质量控制的定性方法。

槐花在处方组成中系臣药,其主要成分是以芦丁为主的总黄酮,本文采用HPLC法测定了本品中芦丁的含量,芦丁峰和样品中其它组分色谱峰可达

基线分离,分离较好(见图1),按芦丁峰计算,理论板数为4185,同时缺槐花阴性溶液色谱中在与芦丁对照品色谱峰相应位置上无色谱峰,说明阴性无干扰,可作为痔疮消胶囊的定量方法。

#### [参考文献]

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 卫生部药品标准·中药成方制剂[S]. 第十二册, 1997: 172.
- [2] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005: 291.