

芎菊上清片质量标准研究

肖丽和*, 黄晓炜, 郭巧技, 熊 英
(深圳市药品检验所, 广东 深圳 518029)

[摘要] 目的: 建立芎菊上清片质量控制方法。方法: 采用薄层色谱法对制剂中的菊花、栀子、黄连进行定性鉴别; 采用高效液相色谱法测定制剂中黄芩苷的含量。结果: 薄层色谱显色清晰且阴性对照无干扰。黄芩苷在 $4.96 \times 10^{-3} \sim 0.248 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度范围内呈良好的线性关系, 平均回收率为 100.1%, RSD= 0.5%。结论: 本法操作简便, 结果准确、重复性好, 可用于芎菊上清片的质量控制。

[关键词] 高效液相色谱法; 黄芩苷; 薄层色谱法; 芎菊上清片

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)03-0010-03

芎菊上清片为川芎、菊花、黄芩等 15 味药材组成的成方制剂, 具有清热、散风、止痛的功效, 用于外感风热, 头痛鼻塞。原标准收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第 8 册, 仅收载川芎、黄连的显微特征鉴别及化学反应鉴别, 为了提高中成药的检测标准, 增加了菊花、栀子和黄连的薄层色谱鉴别及黄芩苷的 HPLC 含量测定。

1 仪器与材料

岛津 LC-20AD 高效液相色谱仪, SPD-M20A 检测器, LC-Solution 色谱工作站; 天津奥特恩斯 AS20500A 型超声波清洗仪。栀子苷、盐酸小檗碱、黄芩苷对照品及菊花、黄连对照药材由中国药品生物制品检定所提供; 芎菊上清片由河北安国药业集团有限公司等 5 个厂家提供, 处方中的 15 味中药由河北安国药业集团有限公司提供。水为超纯水, 甲醇为色谱纯, 实验中所用的其它试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别 菊花 取本品 3 片, 除去糖衣, 研细, 加乙醚 20 mL, 超声处理 10 min, 滤过, 取药渣, 挥去乙醚, 加稀盐酸 0.5 mL 与乙酸乙酯 20 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 2 mL 使溶解, 作为供试品溶液。按处方及制法, 制成缺菊花阴性对照样品, 取相当于供试品的量, 按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。另取菊花对照药

材 0.5 g, 同法制成对照药材溶液。吸取上述两种溶液各 2 μL , 分别点于同一聚酰胺薄膜上, 以甲苯-乙酸乙酯-甲酸-冰醋酸-水(1:15:1:1:2)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, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的 2 个荧光主斑点。菊花阴性对照色谱相应位置无斑点, 说明阴性对照溶液对鉴别无干扰。见图 1。



图 1 芎菊上清片中菊花薄层色谱图

1, 2, 3 样品; 4 菊花对照药材; 5 缺菊花阴性对照

栀子 取本品 5 片, 除去糖衣, 研细, 加甲醇 20 mL, 超声处理 20 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加少量乙醇使溶解, 加中性氧化铝 1 g, 拌匀, 干燥, 置中性氧化铝柱(100~200 目, 2 g, 内径 1 cm, 干法装柱)上, 以乙醇 30 mL 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣加乙醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。按处方及制法, 制成缺栀子阴性对照样品, 取相当于供试品的量, 按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。另取栀子苷对照品, 加乙醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液, 作为对

[收稿日期] 2008-06-16

[通讯作者] * 肖丽和, Tel: (0755) 25874446; E-mail: lihexiao@hotmail.com

照品溶液。吸取上述两种溶液各 4 μ 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-水 (15: 40: 22: 10) 10 $^{\circ}$ C 放置的下层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 香草醛硫酸溶液 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰, 置日光下检视。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。栀子阴性对照色谱相应位置无斑点, 说明阴性对照溶液对鉴别无干扰。见图 2。

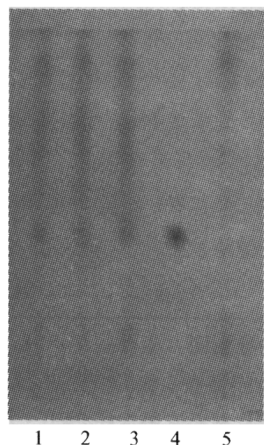


图 2 芎菊上清片中栀子薄层色谱图

1, 2, 3 样品; 4 栀子苷对照品; 5 缺栀子阴性对照

黄连 取本品 2 片, 除去糖衣, 研细, 加甲醇 10 mL, 超声处理 20 min, 滤过, 滤液作为供试品溶液。按处方及制法, 制成缺黄连阴性对照样品, 取相当于供试品的量, 按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。另取黄连对照药材 40 mg, 加甲醇 5 mL, 同法制成对照药材溶液。再取盐酸小檗碱对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.2 mg 的溶液, 作为对照品溶液。吸取上述供试品溶液 4 μ L, 对照药材溶液、对照品溶液各 2 μ L, 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, 以正丁醇-冰醋酸-水 (7: 1: 2) 为展开剂^[1], 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯 (365 nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照药材及对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点。黄连阴性对照色谱相应位置无斑点, 说明阴性对照溶液对鉴别无干扰。见图 3。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件^[2-3] 色谱柱: Waters Spherisorb ODS2 柱 (4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m), 流动相为甲醇-水-磷酸 (46: 54: 0.2); 流速: 0.8 mL \cdot min⁻¹; 检测波长: 277 nm; 柱温: 35 $^{\circ}$ C; 进样量 10 μ L。在此色谱条件下, 色谱峰分离度好, 且阴性对照样品对检测无干扰, 见图 4。

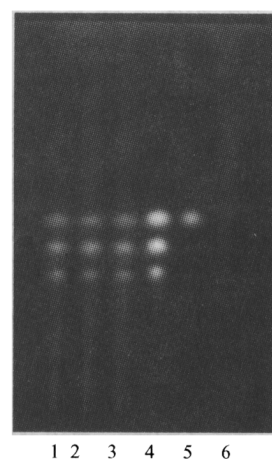


图 3 芎菊上清片中黄连薄层色谱图

1, 2, 3 样品; 4 黄连对照药材; 5 盐酸小檗碱对照品 6 缺黄连阴性对照

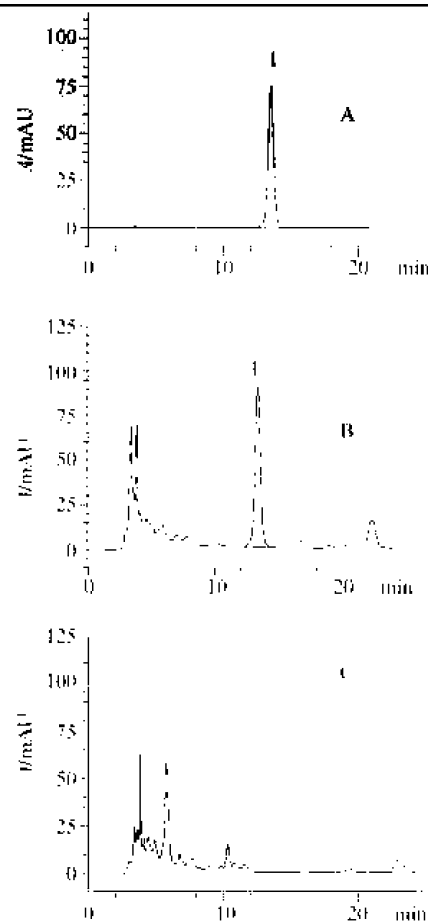


图 4 液相色谱图

A. 黄芩苷对照品; B. 芎菊上清片; C. 缺黄芩阴性对照

2.2.2 对照品溶液制备 精密称取黄芩苷对照品 0.010 16 g, 加甲醇制成每 1 mL 含 50.8 μ g 的溶液, 作为对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液制备 取本品 20 片, 除去糖衣, 研细, 取约 0.2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 乙醇 50 mL, 称定重量, 超声处理 30 min, 放

冷,再称定重量,用 70% 乙醇补足减失的重量,摇匀,滤过,滤液作为供试品溶液。

2.2.4 阴性对照溶液的制备 按处方及制法,制成缺黄芩阴性对照样品。取相当于供试品的量,按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。

2.2.5 线性关系考察 精密吸取不同浓度的黄芩苷对照品溶液各 10 μ L,注入液相色谱仪,记录峰面积,以对照品的浓度为横坐标,测得的峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程: $Y = 4 \times 10^7 X - 4.676 \times 10^3$, $r = 0.9999$ 。结果表明,黄芩苷对照品浓度在 $4.96 \times 10^{-3} \sim 0.248 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 之间与其峰面积呈良好的线性关系。

2.2.6 精密度试验 取同一批供试品(批号 066303) 6 份,按含量测定方法测定。结果黄芩苷含量平均值为 4.1 mg/片, RSD 为 1.9%。

2.2.7 稳定性试验 取本品(批号 066303) 除去糖衣后研细的粉末 0.2 g,按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液,按含量测定方法,分别在 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 进样测定。结果测得的黄芩苷峰面积的 RSD 为 0.2%,表明供试品溶液 12 h 内基本稳定。

2.2.8 准确度试验 取同一批已知含量的供试品(批号 066303) 6 份,分别精密加入一定量的黄芩苷对照品,按含量测定方法测定,计算黄芩苷的回收率。结果见表 1。

表 1 芎菊上清片中黄芩苷回收率结果

No.	取样量 (g)	样品中含量(mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.090 80	1.448 6	1.515 6	2.955 2	99.4	100.1	0.5
2	0.091 54	1.460 4	1.515 6	2.986 1	100.77		
3	0.090 06	1.436 8	1.515 6	2.947 5	99.7		
4	0.091 21	1.455 1	1.515 6	2.971 8	100.1		
5	0.090 77	1.448 1	1.515 6	2.968 7	100.3		
6	0.092 46	1.475 0	1.515 6	3.000 2	100.6		

2.2.9 样品的测定 取本品 13 批,按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液,进样测定,结果见表 2。

3 讨论

作者分别以正己烷-乙酸乙酯(9:1)、石油醚(30~60 $^{\circ}$ C)-乙醚(3:2)为展开剂,进行川芎对照药材及欧前胡素、异欧前胡素的薄层色谱鉴别,结果均存在阴性干扰,可能是因为本方中除川芎、白芷外,还有

表 2 样品测定结果(n=4)

批号	黄芩苷含量 mg/片	RSD (%)
066303 ^a	4.1	0.9
050603 ^b	2.1	0.1
051104 ^b	1.7	0.6
6902001 ^b	2.0	0.2
6902002 ^b	2.5	0.6
6902003 ^b	2.6	0.2
20060101 ^c	2.1	0.8
20060102 ^c	2.0	0.2
20060601 ^c	1.5	0.7
070301 ^d	8.8	0.2
070302 ^d	8.8	1.4
070303 ^d	9.3	1.2
060702 ^e	2.8	0.9

注: a 河北安国药业集团有限公司生产; b 承德燕峰药业有限责任公司生产; c 河北永丰药业有限公司生产; d 保定中药制药有限公司生产; e 石家庄乐仁堂制药有限责任公司

防风、羌活、藁本等伞形科来源的药材,因此未收载川芎、白芷的薄层色谱鉴别。

《中国药典》2005 年版一部黄连项下的薄层鉴别色谱条件中,展开剂含有毒性大的苯且组成较复杂,作者改用正丁醇-冰醋酸-水(7:1:2)为展开剂进行芎菊上清片中黄连的鉴别,色谱分离效果好且操作简便、易于控制。

黄芩苷含量测定的供试品制备方法考察:首先比较了回流提取法和超声提取法,结果表明两种方法的提取效果无明显差异,然后比较了分别用甲醇、70% 乙醇、稀乙醇作为提取溶剂的提取效果,结果以 70% 乙醇、稀乙醇提取所得样品的黄芩苷含量最高,考虑到 70% 乙醇作为提取溶剂的样品较容易过滤且杂质较少,最后以 70% 乙醇为溶剂超声提取法考察了 30 min、60 min、90 min 的提取效果,结果无明显差别,因此最终选择上述供试品提取方法。

[参考文献]

[1] 杨 辉. TLCs 法测定复方黄连颗粒中盐酸小檗碱的含量[J]. 安徽医药, 2006, 10(1): 25.

[2] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005. 1, 211.

[3] 陈学松, 张 涛. 感冒止咳糖浆的质量标准研究[J]. 2008, 11(5): 506.