

茵黄口服液质量标准的研究

谢秀娟^{1*}, 郭洛宏², 曹 晨³, 姚 佳³

(1. 河南科技大学第一附属医院, 河南 洛阳 471003; 2. 洛阳市药品检验所, 河南 洛阳 471003; 3. 河南大学药学院, 河南 开封 475001)

[摘要] 目的: 制定茵黄口服液的质量标准。方法: 采用薄层色谱法对茵陈、黄芩、大黄、栀子进行了定性鉴别。用反相高效液相色谱法测定了制剂中黄芩苷的含量。固定相为 Kromasil C₁₈ 柱(4.6mm × 250mm, 5 μm), 以甲醇-水-磷酸(47: 53: 0.2) 为流动相, 检测波长 278nm。结果: 用 TLC 法检出了黄芩、茵陈、大黄、栀子。黄芩苷在 0.088~ 0.44μg 内呈良好的线性关系, 黄芩苷的平均回收率为 98.31% (n = 5), RSD 为 0.49%。结论: 所建立的方法简便、准确、重现性好。可用于控制茵黄口服液质量。

[关键词] 茵黄口服液; 黄芩苷; HPLC; 黄芩; 茵陈

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2006)09-0017-03

茵黄口服液为河南科技大学第一附属医院制剂, 该制剂由茵陈、黄芩、栀子、甘草、大黄、白茅根等组成, 具有保肝健脾、清热利胆、除湿解毒的功效。近年来临床上用于病毒性肝炎及小儿急性肝病性黄疸, 收到了较好效果。为有效控制其制剂质量, 对方中茵陈、黄芩、大黄、栀子进行了薄层鉴别, 并采用反相高效液相法对方中所含黄芩中的黄芩苷进行含量测定。鉴别专属。含量测定方法简便、快捷、准

确, 可有效控制茵黄口服液的质量。

1 仪器与材料

CAMAG 薄层成像系统(瑞士 CAMAG 公司); CAMAG 紫外分析仪(瑞士 CAMAG 公司); Waters Alliance 2695 高效液相色谱仪, Waters 2995E 二极管阵列检测器, Empower 色谱工作站; 硅胶 G(青岛海洋硅胶干燥剂厂生产); 聚酰胺薄膜(浙江省台州市路桥四青生化材料厂)。茵黄口服液(河南科技大学第一附属医院生产, 批号: 041010, 041011, 041012), 阴性对照品及硅胶 G 薄层板自制。茵陈对照药材、黄芩苷对照品(由中国药品生物制品检定所提供, 批号分别为 950-9904、10715-200212)。乙腈、甲醇为色谱

[收稿日期] 2005-10-24

[通讯作者] * 谢秀娟, Tel: (0379) 64830211; E-mail: moyun63@yahoo.com.cn

纯,其他试剂试药均为分析纯。

2 薄层色谱鉴别方法与结果

2.1 茵陈的薄层色谱鉴别 取本品 10mL,用醋酸乙酯提 2 次,每次 15mL,合并醋酸乙酯提取液,蒸干,残渣加甲醇 1mL 使溶解,作为供试品溶液。取茵陈对照药材 1g,加甲醇 10mL,超声处理 15min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1mL 使溶解,作为对照药材溶液。取按照处方工艺制成的不含茵陈的样品,同法制成阴性对照液。吸取上述三种溶液各 10 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚-醋酸乙酯-丙酮(6:3:0.5)为展开剂,展开,取出,晾干。喷以 10% KOH 甲醇液,置紫外(365nm)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,阴性对照液无干扰。

2.2 黄芩的薄层色谱鉴别 取本品 1mL,加 75% 乙醇溶液 5mL,摇匀,作为供试品溶液。取黄芩苷对照品,分别加 75% 乙醇制成每 1mL 含 0.1mg 的溶液,作为对照品溶液。取按照处方工艺制成的不含黄芩的样品,同法制成阴性对照液。吸取上述三种溶液各 1~2 μ L,分别点于同一聚酰胺薄膜(5cm \times 7cm)上,以 36% 乙酸为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365nm)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,阴性对照液无干扰。

2.3 大黄的薄层色谱鉴别 取本品 10mL,加盐酸 1mL,置水浴上加热 30min,立即冷却,用乙醚提取 2 次,每次 15mL,合并乙醚液,蒸干,残渣加氯仿 1mL 使溶解,作为供试品溶液。取大黄对照药材 0.1g,加甲醇 20mL 浸渍 1h,滤过,取滤液 5mL,蒸干加水 10mL 使溶解,再加盐酸 1mL,置水浴上加热 30min,立即冷却,用乙醚分 2 次提取,每次 20mL,合并乙醚液,蒸干,残渣加氯仿 1mL 使溶解,作为对照药材溶液。取按处方工艺制成的不含大黄的样品,同法制成阴性对照液。吸取上述三种溶液各 5 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,以石油醚(30~60 $^{\circ}$ C)-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1)的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同的五个橙黄色荧光主斑点;置氨蒸气中熏后,日光灯下检视,斑点变为红色。阴性对照液无干扰。

2.4 栀子的薄层色谱鉴别 取本品 20mL,置具塞

量筒中,加乙醇 60mL,摇匀,静置 24h,滤过,滤液回收并挥去乙醇,用乙醚振摇提取 2 次,每次 15mL,弃去醚层,水层用醋酸乙酯提取 3 次(20mL、15mL、10mL),合并提取液,蒸干,残渣加少量乙醇使溶解,加中性氧化铝 1g,在水浴上拌匀,干燥,装在氧化铝柱(100~200 目、中性氧化铝 2g,内径 1cm,干法装柱)上,以 50% 乙醇 40mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加甲醇 1mL 使溶解,作为供试品溶液。取栀子对照品,加甲醇制成每 1mL 含 1mg 的溶液,作为对照品溶液。取按照处方工艺制成的不含栀子的样品,同法制成阴性对照液。吸取上述三种溶液各 5 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,以石油醚(30~60 $^{\circ}$ C)-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1)的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同的五个橙黄色荧光主斑点;置氨蒸气中熏后,日光灯下检视,斑点变为红色。阴性对照液无干扰。

3 黄芩苷含量的测定方法与结果

3.1 色谱条件 色谱柱为 Kromasil C₁₈ 柱(4.6mm \times 250mm,5 μ m);甲醇-水-磷酸(47:53:0.2)为流动相;检测波长 278nm,流速 1mL/min;柱温 35 $^{\circ}$ C。

3.2 供试品溶液的制备 精密吸取茵黄口服液 2mL,置 50mL 瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过即得。

3.3 对照品溶液的制备 精密称取黄芩苷对照品 5.5mg 置 25mL 容量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制成每 1mL 含 220 μ g 的溶液,备用。

3.4 阴性对照溶液的制备 取按处方比例及生产工艺制备的不含黄芩原药材的茵黄口服液,按供试品溶液的制备,同法操作即得。

3.5 检测波长的确定 应用二极管阵列检测器和色谱测得供试品中黄芩苷色谱峰与黄芩苷对照品色谱峰的吸收光谱,选定最大吸收波长 278nm 为测定波长。

3.6 选择性实验 吸取黄芩苷对照品溶液,供试品溶液及阴性对照液各 10 μ L,分别注入色谱仪。结果表明,以 278nm 为检测波长,供试品溶液和黄芩苷对照品溶液在相应位置上有相似的吸收峰,而阴性对照溶液相应的位置上则无吸收峰,说明其他药味不干扰黄芩苷的检测。

3.7 标准曲线的制备 精密吸取黄芩苷对照品溶

液 1mL 2mL 3mL 4mL 5mL 分别置于 25mL 瓶中,用甲醇稀释至刻度,按上述色谱条件,进样 10 μ L,以进样的对照品溶液浓度 C(mg/mL) 为横坐标峰面积积分为纵坐标进行线性回归,回归方程为 $y = -2.4400 \times 10^4 + 3.7211 \times 10^7 x$ ($r = 0.9991$),黄芩苷对照品在 0.088~ 0.44 μ g 范围内线性良好。

3.8 精密度试验 精密吸取黄芩苷对照品溶液 10 μ L,重复进样 5 次,测定峰面积积分值,对照品峰面积积分值的 *RSD* 为 0.35%,精密度良好。

3.9 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别在 0.4、8、16、24h 进样测定,供试品黄芩苷峰面积积分值的 *RSD* 为 0.21%,说明黄芩苷至少在 24h 内稳定。

3.10 重复性试验 同一批号样品分别取样 5 份,照 2.2.2 项下方法操作,测定,计算含量。平均含量为 4.8360(mg/mL),*RSD* 为 0.89%。

3.11 回收率试验 采取加样回收试验,取同一批供试品 6 份,一份作为随行样品,其余 5 份,称取一定量的样品,加入一定量的对照品,按供试品制备所述方法进行提取测定,计算回收率。结果见表 1。5 次测定的平均回收率为 98.31%,*RSD* 为 0.49%。

表 1 加样回收率测定结果

样品量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	<i>RSD</i> (%)
4.8481	1.0215	5.8483	97.92	98.31	0.49
	1.0516	5.8778	97.99		
	1.0023	5.8328	98.25		
	1.0021	5.8329	98.27		
	1.0012	5.8406	99.13		

3.12 样品含量测定 取样品 3 批,依法测定含量,结果见表 2。

表 2 3 批样品含量测定结果

批号	黄芩苷含量(mg/mL)	平均含量(mg/mL)
041010	4.8481	4.8104
041011	4.7900	
041012	4.7931	

4 讨论

4.1 茵陈的薄层色谱鉴别显色剂选择时,考虑到茵陈含有香豆素类成分,在紫外光灯(365nm)下发出蓝色荧光,加碱后荧光强度增加。故选用 10% 的 KOH 甲醇液为显色剂。

4.2 黄芩的薄层鉴别采用聚酰胺薄膜为固定相,其灵敏度高于硅胶 G 板,同时有利于控制点样量,展开结果较硅胶 G 固定相好。

4.3 大黄的薄层鉴别在较高温下展开易出现边缘效应,分离效果较差,斑点难以拉开,而在低温下展开能取得较好的效果,斑点清晰,鉴别专属。

4.4 栀子的薄层采用直接提取、点样的方法背景干扰严重,故采用中性氧化铝洗脱,使栀子苷斑点和杂质斑点分离,以确定栀子中具有特征的斑点,用阴性对照液对照无干扰,结果稳定,重复性好。

4.5 茵黄口服液为复方制剂,成分复杂,采用 HPLC 不经分离,直接测定其中黄芩苷的含量,方法简便快速,精密度实验,验证结果可靠。

[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. 248, 420.
- [2] 刘国文, 刘密新. 芩夏止喘颗粒中黄芩苷的稳定性研究[J]. 中国药学杂志, 2000, 35(8): 533.
- [3] 郭平, 李章万, 蒋学华, 等. HPLC 测定 12 种中药制剂中黄芩苷的含量[J]. 药物分析, 1995, 15(5): 13.