消痤丸质量标准的研究

陈明霞, 孙万晶, 王筱亮, 张玉杰*
(北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

[摘要] **目的**: 建立消痤丸(浓缩丸)的质量标准。**方法**: 采用 TLC 法对处方中的柴胡, 黄芩, 石斛, 龙胆, 金银花进行定性鉴别; 用高效液相色谱法测定消痤丸中黄芩苷的含量。**结果**: 薄层图谱斑点清晰, 阴性对照无干扰; 黄芩苷在 0.176~ 0.880μg 范围内, 进样量与峰面积积分值呈良好的线性关系, 平均回收率 100.11%, RSD 为 1.73%。**结论**: 所建立的方法简便, 准确, 重复性好, 精密度高, 可用于消痤丸的质量控制。

[关键词] 消痤丸; 薄层鉴别; 黄芩苷
[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)06-0016-04

Study on Quality Control of Xiaocuo Pill

CHEN Ming-xia, SUN Wan-jing, WANG Xiao-liang, ZHANG Yu-jie
(*Department of Chinese Pharmacy, Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing* 100102, *China*)

[**Abstract**] **Objective**: To establish the quality standard for Xiaocuo Pills. **Methods**: TLC was applied to identify *Radix Bupleuri*, *Radix Scutellariae*, *Herba Dendrobii*, *Ridex Gentianae* and *Flos lonicerae*; and a HPLC method was established to determine the content of baicalin in Xiaocuo Pills. **Results**: The characteristic spots developed in the TLC were fairly clear without interference. A good linearity of baicalin was obtained within the range of 0.176~ 0.880μg. The average recovery of baicalin was 100.11%, RSD was 1.73%. **Conclusion**: The method established is simple and accurate. It can be used for quality control of Xiaocuo Pills.

[**Key words**] Xiaocuo Pills; TLC; baicalin

消痤丸是由升麻, 柴胡, 麦冬, 野菊花, 黄芩, 玄参, 石膏, 石斛, 龙胆等 16 味中药加工制成的浓缩丸, 具有清热解毒的功效, 临床上主要用于痤疮的治疗。为了有效地控制制剂的内在质量, 确保其临床疗效, 需要对其进行质量标准的研究。由于该处方中药味众多, 干扰较大, 给定性鉴别和含量测定都带来了一定的困难, 尤其在定性鉴别中, 存在着诸多的干扰因素。通过多次试验尝试, 笔者最终选择了方中的柴胡, 黄芩, 石斛, 龙胆, 金银花五味进行了薄层定性鉴别, 并建立了用高效液相测定黄芩苷含量的定量方法。该方法简便、准确、可靠, 重现性好, 可有效地控制消痤丸的内在质量。

1 仪器及试剂

1.1 仪器 HP1100 高效液相色谱仪; HP1100 二级管阵列检测器; HP1100 色谱工作站; 7725i 手动进样器。

1.2 对照品与对照药材 黄芩苷对照品, 购自中国药品生物制品检定所, 供含量测定用, 批号 0715-9506; 柴胡(批号: 0992-200001)、石斛(批号: 121501-200303)、龙胆(批号: 0988-200402)、金银花(批号: 121066-200303)对照药材, 购自中国药品生物制品检定所。

1.3 试剂 甲醇为色谱醇; 水为超纯水; 其它试剂均为分析纯。

2 定性鉴别

2.1 柴胡的 TLC 鉴别 取本品 3g, 研细, 加甲醇

[收稿日期] 2005-06-30
[通讯作者] 张玉杰, Tel: (010) 84738618-6027; E-mail: ZHYJ227@126.com

30mL, 超声处理 20min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 20mL 使溶解, 用乙醚振摇提取 2 次, 每次 20mL, 弃去乙醚液, 再用水饱和的乙酸乙酯提取 2 次, 每次 20mL, 合并提取液, 蒸干, 残渣加甲醇 1mL 使溶解, 作为供试品溶液。按处方配比称取缺柴胡药材的其他药材, 制备阴性对照样品, 并按供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。另取柴胡对照药材 2g, 加甲醇 20mL, 超声处理 20min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 1mL 使溶解, 作为对照药材溶液。照薄层色谱法试验, 吸取供试品溶液、阴性对照溶液和柴胡对照药材溶液各 5μL, 分别点于同一硅胶 G 板上, 以乙酸乙酯-乙醇-水(8∶2∶1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 2% 对二甲氨基苯甲醛的 40% 硫酸溶液, 60 ℃加热至斑点显色清晰, 置日光及紫外光灯(365nm) 下观察, 供试品溶液色谱中与对照药材色谱相应位置上, 显相同红色斑点(日光下) 或黄色荧光斑点(紫外光灯下观察), 阴性无干扰。

2.2 黄芩的 TLC 鉴别　取黄芩苷对照品, 加甲醇制成每 1mL 含 1mg 的溶液, 作为对照品溶液。按处方配比称取缺黄芩药材的其他药材, 制备黄芩阴性对照样品, 并按供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。照薄层色谱法试验, 吸取 2.1 中供试品溶液、阴性对照溶液和黄芩苷对照品溶液各 5 μL, 分别点于同一聚酰胺薄膜上, 以 36% 醋酸为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 1% 三氯化铁乙醇溶液, 可见光下检视, 供试品溶液色谱中与对照药材色谱相应位置上, 显相同蓝绿色暗斑点, 阴性无干扰。

2.3 石斛的 TLC 鉴别　取本品 3g, 研细, 置具塞三角瓶中, 加浓氨水适量, 使粉末润湿, 密塞放置 30min, 加氯仿 30mL, 回流提取 2h, 取出、放冷, 滤过, 滤液浓缩至 1mL 作为供试品溶液。按处方配比称取缺石斛药材的其他药材, 制备石斛阴性对照样品, 并按供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。另取石斛对照药材 2g, 同上法处理, 定容至 1mL, 作为对照药材溶液。照薄层色谱法试验, 吸取供试品溶液、阴性对照溶液和石斛对照药材溶液各 5 μL, 分别点于同一硅胶 G 板上, 以氯仿-甲醇(10∶0.8) 为展开剂(氨蒸气饱和下), 展开, 取出, 晾干, 喷以改良碘化铋钾溶液, 晾干, 再喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 105 ℃加热至斑点显色清晰, 供试品溶液色谱中与对照药材色谱相应位置上, 显相同橙红色斑点, 阴性无干扰。

2.4 龙胆的 TLC 鉴别　取本品 3g, 研细, 加石油醚 30mL, 置水浴上加热回流 2h, 滤过。药渣加丙酮 30mL, 置水浴上加热回流 30min, 滤过, 药渣加甲醇 30 mL, 超声处理 30min, 滤过, 滤液浓缩至约 1mL, 加在中性氧化铝柱(120 目, 1g, 内径 15mm) 上, 用甲醇洗脱至洗脱液无色(此时甲醇用量约 50mL), 洗脱液浓缩至 1mL, 作为供试品溶液。按处方配比称取缺龙胆药材的其他药材, 制备龙胆阴性对照样品, 并按供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。另取龙胆对照药材 2g, 加甲醇 20mL, 超声处理 20min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 1mL 使溶解, 作为对照药材溶液。照薄层色谱法试验, 吸取供试品溶液、阴性对照溶液和龙胆对照药材溶液各 5 μL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-甲醇(5∶2) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干。紫外光灯(365 nm) 下观察, 供试品溶液色谱中与对照药材色谱相应位置上, 显相同黄色荧光斑点, 阴性无干扰。

2.5 金银花的 TLC 鉴别　取本品 3g, 研细, 加乙醚 20mL, 回流提取 20min, 取出、放冷, 滤过, 弃去乙醚液, 残渣加甲醇 20mL, 超声处理 20min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 20mL, 微热使溶解, 趁热过滤, 滤液加盐酸调 pH 2~3, 用乙酸乙酯提取 2 次, 每次 20mL, 合并提取液, 蒸干, 残渣加甲醇 1mL 使溶解, 作为供试品溶液。按处方配比称取缺金银花药材的其他药材, 制备金银花阴性对照样品, 并按供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。另取金银花对照药材 2g, 加乙醚 20mL, 回流提取 20min, 取出、放冷, 滤过, 弃去乙醚液, 残渣加甲醇 15mL, 超声处理 20min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 1mL 使溶解, 作为对照药材溶液。照薄层色谱法试验, 吸取供试品溶液、阴性对照溶液和金银花对照药材溶液各 5 μL, 分别点于同一聚酰胺薄膜上, 以醋酸-水(7∶5) 为展开剂, 展开, 紫外光灯(365nm) 下观察, 供试品溶液色谱中与对照药材色谱相应位置上, 显相同蓝色荧光斑点, 阴性无干扰。

3 含量测定

3.1 对照品溶液的制备　精密称取黄芩苷对照品适量, 加甲醇制成每 1mL 含 0.08mg 的溶液, 作为对照品溶液(4 ℃保存)。

3.2 供试品溶液的制备　取本品粉末 0.5g, 精密称定, 加 70% 乙醇 40mL, 加热回流提取 2h, 放冷, 滤过, 滤液置 50mL 量瓶中, 用少量 70% 乙醇分次洗涤容器和残渣, 洗液滤入同一量瓶中, 加 70% 乙醇至刻

度, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45μm) 滤过, 取滤液作为供试品溶液。

3.3 阴性对照溶液的制备　按处方配比称取缺黄芩药材的其他药材, 制备阴性对照样品, 然后按 3.2 项下操作方法制备。

3.4 色谱条件[1]　色谱柱: YWG-C_{18}(4.6×250mm, 10μm); 流动相: 甲醇-0.2% 磷酸(48∶52); 流速: 1mL·min^{-1}; 检测波长: 280nm; 柱温: 25℃; 此条件下黄芩苷与其它成分达到有效分离, 分离度 R> 1.5, 阴性对照无干扰, 见图 1。

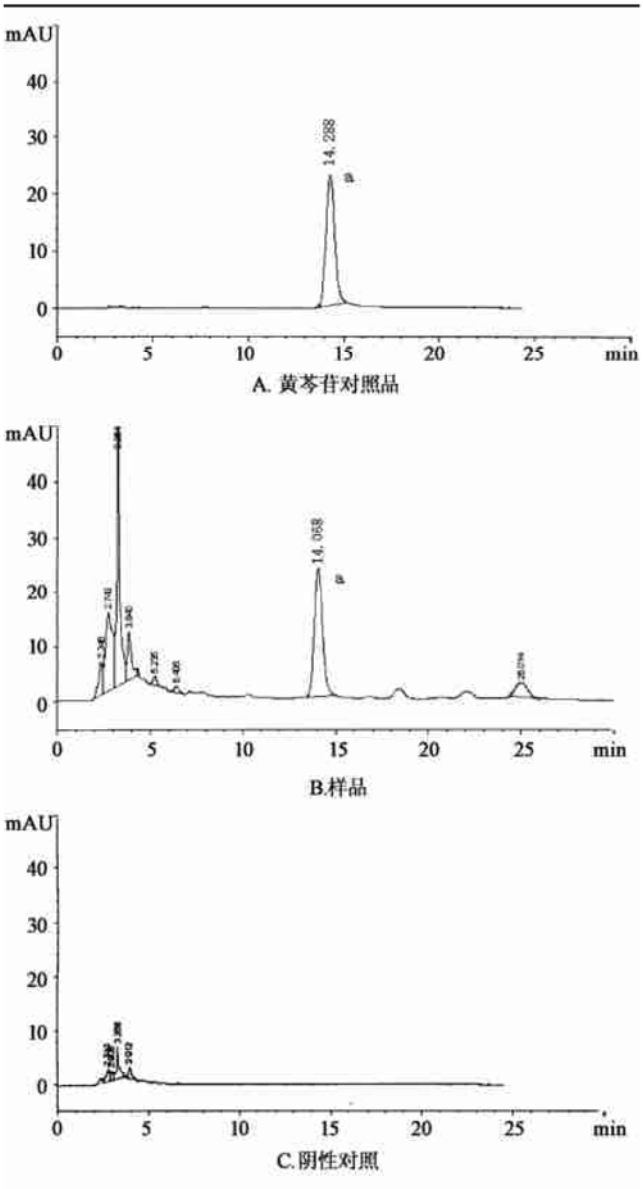

图 1　高效液相色谱图

3.5 线性关系的考察　精密吸取黄芩苷对照品溶液(0.088mg/mL) 2, 4, 6, 8, 10μL, 依前述色谱条件进样分析, 以进样量(X) 为横坐标, 峰面积(Y) 为纵坐标作图, 并进行线性回归, 求得回归方程: $Y = 1787.1X - 31.63$, 相关系数 $r = 0.9995$。结果表明, 进样量在 0.176~ 0.880μg 范围内线性关系良好。

3.6 精密度试验　精密吸取黄芩苷对照品溶液 4μL, 连续进样 5 次, 以黄芩苷的峰面积计算, RSD 为 2.36%, 表明仪器精密度良好。

3.7 稳定性试验　取同一供试品溶液, 分别于制备后 0, 2, 4, 6, 8, 10h 进样测定, 测得黄芩苷峰面积积分值, 计算 RSD 值为 1.55%, 表明样品在 10h 内稳定。

3.8 重复性试验　精密称取本品 5 份, 依法制备供试品溶液, 进行测定, 计算黄芩苷含量, RSD 为 1.79%, 表明该方法的重复性良好。

3.9 回收率试验　精密称取样品 5 份, 每份 0.25g (黄芩苷含量 7.52 mg/g), 分别加入黄芩苷对照品 2.1mg, 依前述供试品溶液的制备方法和测定方法, 进行测定, 结果平均回收率为 101.05%, RSD = 1.87%, 结果见表 1。

表 1　黄芩苷回收率测定结果

称样量 (g)	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	$\bar{x}$ (%)	RSD (%)
0.2540	1.91	2.10	4.08	103.33		
0.2551	1.92	2.10	4.04	100.95		
0.2780	2.09	2.10	4.16	98.57	101.05	1.87
0.2510	1.89	2.10	4.04	102.38		
0.2587	1.94	2.10	4.04	100.00		

3.10 样品含量测定　精密称取 3 个不同批号的样品各 3 份, 依法制备和测定, 测定结果见表 2。

表 2　消痤丸中黄芩苷的含量测定(n= 3)

样品批号	黄芩苷平均含量($mg·g^{-1}$)	RSD(%)
040101	7.52	1.21
040204	6.39	0.98
040302	6.50	1.35

4　讨论

柴胡皂苷、黄芩苷较易溶于甲醇、乙酸乙酯等有机溶剂而不溶于乙醚, 本实验采用甲醇超声提取有效成分, 蒸干并用水分散, 乙醚萃取叶绿素等脂溶性杂质后, 再用乙酸乙酯萃取其有效成分的方法, 制备了柴胡和黄芩薄层鉴别的供试品溶液, 既保证了有效成分最大量的提出, 又减少了杂质的干扰, 实验证明此方法确实可行。金银花供试品溶液的制备也采用了先用乙醚除杂, 甲醇提取其有效成分, 蒸干, 用水分散, 加酸使碱性成分成盐溶于水后, 用乙酸乙酯

提取绿原酸及异绿原酸等成分, 这样有效地避免了碱性成分的干扰。石斛中主要含生物碱类成分, 且易溶于氯仿, 实验中先用氨水游离生物碱, 再用氯仿回流的方法制备了其供试品溶液。龙胆供试品溶液的制备中, 石油醚、丙酮回流以及氧化铝柱的目的均在于除杂。

在建立石斛的定性鉴别方法时, 由于石斛碱含量较低, 直接喷改良碘化铋钾溶液不容易显色, 经过摸索找出先喷改良碘化铋钾溶液, 再喷 10% 硫酸乙醇液作加强剂的显色方法, 经多批样品及阴性对照试验观察确认本法分离度好, 阴性无干扰, 显色明显, 确实可行。

在建立金银花的定性鉴别方法时, 因本制剂中蒲公英和野菊花两味中药中亦含有绿原酸, 阴性中有干扰。但金银花中含异绿原酸而蒲公英和野菊花中则无此成分, 后以金银花为对照药材, 以异绿原酸为特征性成分, 建立了本制剂中金银花的定性鉴别方法, 经过多批样品及阴性对照试验观察, 确认本法可行。

龙胆苦苷为龙胆中特征性有效成分, 以其为指标建立定性鉴别方法时, 阴性中有干扰, 而龙胆药材中有一特异的黄色荧光斑点, 阴性中无干扰。后以龙胆药材为对照, 建立了本制剂中龙胆的定性鉴别方法。

本文选取方中的君药黄芩进行含量测定, 以黄芩苷为检测指标。在所选液相条件下, 黄芩苷能与其它成分达到有效分离且阴性对照无干扰, 此方法简便, 可靠, 可有效地控制君药黄芩的质量。

[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.