

• 质量标准 •

复方蒲苓胶囊质量标准的研究

吴德玲^{1*}, 黄顺旺², 王林普¹

(1. 安徽中医学院药学院, 安徽 合肥 230031; 2. 合肥市仁康医药科技有限公司, 安徽 合肥 230031)

[摘要] 目的: 建立复方蒲苓胶囊的质量标准。方法: 采用TLC法进行定性鉴别; 采用HPLC法测定黄芩苷的含量, 流动相为甲醇-水-磷酸(48: 52: 0.1), 流速1.0mL/min, 检测波长为280nm。结果: 薄层色谱图清晰, 阴性对照无干扰; 黄芩苷在16.5 μ g/mL~132 μ g/mL范围内, 线性关系良好, $r=0.9999$; 回收率为98.72, RSD=0.83%。结论: TLC-HPLC方法可靠, 结果稳定、重复性好, 可作为复方蒲苓胶囊质量控制的方法。

[关键词] 复方蒲苓胶囊; 薄层色谱; 黄芩苷; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)06-0008-03

复方蒲苓胶囊是在复方蒲苓片的基础上进行的改剂型, 处方为蒲公英、黄芩、北豆根和三棵针等四味药材的提取物组成, 具有清热消炎的作用, 用于急、慢性支气管炎、肺炎、扁桃腺炎、牙龈炎等的治疗。原剂型质量标准较为简单, 没有定量标准^[1], 为了更好地控制制剂的质量, 保证临床用药安全, 我们参考有关文献^[2-5], 通过实验研究, 建立了采用TLC法鉴别制剂中的黄芩、三棵针和北豆根, 采用HPLC法测定黄芩苷的含量, 现报道如下:

1 仪器与试剂

岛津LC-10ATvp溶剂输送泵, SPD-10Avp紫外可见检测器, 浙江大学N-2010色谱工作站; AG285型电子天平(梅特勒-托利多中国有限公司); AS3120超声波清洗仪: 天津AUTOSCIENCE。黄芩苷、盐酸小檗碱和北豆根对照药材由中国药品生物制品检定所提供; 3批复方蒲苓胶囊供试样品由合肥仁康医药科技有限公司研制提供。

2 薄层色谱鉴别

2.1 黄芩 取本品2g, 研细, 加甲醇20mL, 密塞, 超声处理20min, 静置, 吸取上清液作为供试品溶液; 按照本品的制备工艺, 制备缺黄芩的阴性对照样品, 同前处理所得溶液作为本品的阴性对照液; 取黄芩苷对照品加甲醇制成每1mL含0.3mg的溶液, 作为对

照品的溶液。吸取上述三种溶液各5 μ L, 分别点于同一以含4%醋酸钠的羧甲基纤维素钠溶液为黏合剂的硅胶G薄层板上, 以醋酸乙酯-丁酮-甲酸-水(5: 3: 1: 1)为展开剂, 预平衡30min, 展开, 取出、晾干, 喷以1%三氯化铁乙醇溶液。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同的暗绿色斑点, 缺味阴性样品无干扰(结果见图1)。

2.2 三棵针 取[2.1]项下的供试品溶液, 作为供试品溶液; 按照本品的制备工艺, 制备缺三棵针的阴性对照样品, 同前处理所得溶液作为本品的阴性对照液; 另取盐酸小檗碱对照品加甲醇制成每1mL含0.1mg的溶液, 作为对照品的溶液。吸取上述三种溶液各5 μ L, 分别点于同一硅胶G薄层板上, 以正丁醇-冰醋酸-水(7: 1: 3)的上层溶液为展开剂, 展开、取出、晾干, 置紫外光灯(254nm)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, 缺味阴性样品无干扰(结果见图2)。

2.3 北豆根 取本品2g, 研细, 加浓氨试液2mL, 放置约20min, 加氯仿50mL振摇, 超声处理20min, 静置, 滤过, 将滤液置于分液漏斗中, 加盐酸溶液(1 \rightarrow 10)5mL充分振摇、静置, 取酸水层, 浓缩至约2mL, 作为本品的供试品溶液; 按照本品的制备工艺, 制备缺北豆根的阴性对照样品, 同前处理所得溶液作为本品的阴性对照液; 另取北豆根对照药材0.5g, 同法制成对照药材溶液。吸取上述三种溶液各5 μ L, 分别点于同一含0.5%氢氧化钠羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶G薄层板上, 以苯-丙酮-甲醇(8: 3: 1)为

[收稿日期] 2005-08-18

[通讯作者] 吴德玲, Tel: (0551) 5169239; E-mail: dlwu7375@sina.com

展开剂, 置氨蒸气预饱和的层析缸内, 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, 显相同颜色的荧光斑点, 缺味阴性样品无干扰 (结果见图 3)。

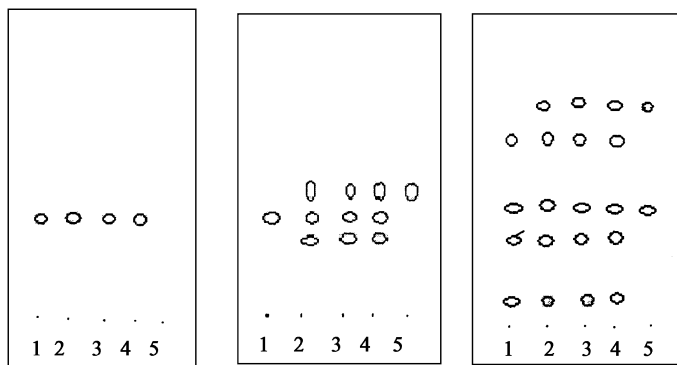


图 1 黄芩苷 TLC 图

1. 样 1; 2. 样 2;
3. 样 3; 4. 黄芩苷
对照品; 5. 阴性样
品

图 2 盐酸小檗碱
TLC 图

1. 盐酸小檗碱对
照品; 2. 样 1; 3.
样 2; 4. 样 3; 5.
阴性样品

图 3 北豆根 TLC
图

1. 北豆根对照药
材; 2. 样 1; 3. 样
2; 4. 样 3; 5. 阴性
样品

3 含量测定

3.1 色谱条件 岛津 VP-ODS C_{18} 柱: 250mm × 4.6mm × 5 μ m; 甲醇-水-磷酸 (48: 52: 0.1) 为流动相; 检测波长为 280nm; 流速 1.0mL/min; 柱温: 室温。

3.2 对照品溶液的制备 精密称取在 60℃减压干燥 4h 的黄芩苷对照品适量, 加甲醇制成每 1mL 含 60 μ g 的溶液, 即得。

3.3 供试品溶液的制备 取本品 60mg, 精密称定, 置 100mL 量瓶中, 加入 70% 乙醇 90mL, 密塞, 超声处理 30min, 放冷, 加 70% 乙醇至刻度, 摇匀, 用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 作为供试品溶液。

3.4 系统适用性试验 取黄芩苷对照品溶液适量, 注入液相色谱仪, 结果黄芩苷峰的理论板数为 5360, 考虑到黄芩苷与其它杂质峰的分离及实际测定的需要, 将理论板数暂定 2500, 取供试品溶液适量, 注入液相色谱仪, 结果黄芩苷的分离度为 1.7, 黄芩苷色谱峰的拖尾因子为 1.04 (0.95~ 1.05), 符合《中国药典》2000 年版一部规定。

3.5 专属性试验 按处方组成, 取除黄芩外的其他组分, 按制备工艺要求, 制成不含黄芩的阴性样品, 称取适量, 用 70% 乙醇超声提取 30min, 放冷, 用 0.45 μ m 的微孔滤膜滤过, 弃去初滤液, 取续滤液适量注入液相色谱仪, 结果表明本品阴性样品无干扰, 该法用于测定黄芩苷含量的专属性强。

3.6 线性范围的考察 精密称取干燥至恒重的黄

芩苷对照品 16.50mg, 置 10mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 作为对照品储备液, 分别精密吸取对照储备液 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8mL 置 10mL 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 制成黄芩苷对照品系列溶液。经 0.45 μ m 滤膜过滤后, 分别精密量取 20 μ L 续滤液, 注入高效液相色谱仪, 记录色谱图。以黄芩苷的色谱峰峰面积 (A) 为纵坐标, 以进样浓度 (μ g/mL) 为横坐标绘制标准曲线, 结果表明, 黄芩苷在 16.5 μ g/mL~ 132 μ g/mL 范围内, 进样浓度 (μ g/mL) 和峰面积之间呈良好的线性关系。其回归方程为 $A = 66456.9 \cdot C - 40735.8$ $r = 0.9999$ 。

3.7 精密度试验 精密吸取同一份供试品溶液 20 μ L, 连续进样 6 次, 记录色谱图, 平均峰面积为 4391515, RSD= 1.4%, 结果表明, 试验所用色谱条件测定的精密度较高。

3.8 供试品溶液的稳定性 取同一样品溶液, 室温条件下, 在 0、1、2、4、8、12、24h 测定一次, 记录色谱图, 平均峰面积为 3693423, RSD= 0.98%, 结果表明, 在室温条件下, 复方蒲芩胶囊的样品液在 24h 内基本稳定。

3.9 重复性试验 用上述样品平行取 6 份, 按含量测定项下方法进行测定, 样品平均含量为 18.25mg/粒, RSD= 1.2。结果表明, 此色谱条件测定样品的重复性良好。

3.10 回收率试验 取黄芩苷含量已知的样品 6 份, 每份约 60mg, 分别精密加入黄芩苷对照品溶液 (66 μ g/mL) 1.0mL 按含量测定项下方法进行测定, 结果见表 1。

结果表明, 本法测定黄芩苷含量的准确度高。

3.11 样品测定 取本品三批样品 (0.25g/粒) 和原制剂市售样品依法进行测定, 结果表 2。

表 1 黄芩苷回收率实验结果

取样量 (g)	样品中含量 (μ g)	添加对照品量 (μ g)	实测黄芩苷量 (μ g)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.0607	52.84	66.0	116.55	96.54		
0.0597	51.94	66.0	116.49	97.80		
0.0634	55.14	66.0	120.55	99.11	97.70	1.50
0.0601	52.26	66.0	116.71	97.65		
0.0619	53.90	66.0	119.56	99.48		
0.0604	52.59	66.0	115.72	95.65		

表2 样品测定结果

批号	黄芩苷含量(mg/粒)
030701	18.7
030703	18.1
030705	18.2
030419(复方蒲公英片-市售)	9.9

4 讨论

在进行鉴别试验时,对方中的蒲公英进行研究时发现,缺味阴性样品有干扰,且重现性差,故未将此项鉴别收载于质量标准中。

本试验比较了回流提取法和超声提取法二种提取方法,以及50%乙醇、70%乙醇和90%乙醇三种提取溶剂,结果表明选用70%乙醇超声提取30min就可将黄芩苷基本提取完全,故选用该方法为样品制备方法。

在选择流动相条件时,参考药典^[2]和有关文献^[3-5]测定黄芩药材和制剂中黄芩苷的流动相(甲醇

:水:磷酸=47:53:0.2)经多次摸索后发现,采用甲醇:水:磷酸(48:52:0.1)为流动相时,黄芩苷的色谱峰能与杂质峰完全分离,峰形较好且阴性样品无干扰,保留时间适中,对色谱柱损害较小,故选做本品的测定条件。

[参考文献]

- [1] 卫生部药品标准·中药成方制剂.[S]第十三册“复方蒲公英胶囊”WS₃-B-2580-97.P148.
- [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,2000.248.
- [3] 王宝荣.中成药质量标准与标准物质研究[M].北京:中国医药科技出版社,1994.226.
- [4] 陈发奎.常用中草药有效成分含量测定[M].北京:人民卫生出版社,1997.610-620.
- [5] 刘同祥,王慧森.HPLC法测定复方蒲公英片中黄芩苷的含量[J].中国中医药信息杂志,2004,11(3):225-226.