

复方葶苈子胶囊质量标准的研究

张 艳, 田其学, 柏正平, 刘桂焕

(湖南省中医药研究院 附属医院, 湖南 长沙 410006)

摘要:目的: 制定复方葶苈子胶囊质量标准。方法: 采用薄层色谱法对制剂中的黄芩、桂枝、甘草进行 TLC 鉴别; 采用高效液相色谱法测定制剂中的黄芩苷含量。结果: 黄芩苷的回归方程 $A = 908.7176C + 107.7668$, $r = 0.9992$ 。平均回收率为 97.3%, RSD 为 1.26%。结论: 黄芩、桂枝、甘草的 TLC 鉴别具有专属性; 黄芩苷的测定方法稳定, 重复性好, 可作为制定复方葶苈子胶囊质量标准的试验依据。

关键词: 复方葶苈子胶囊; 黄芩苷; 桂皮醛; 薄层色谱; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.2 **文献标识码:** B **文章编号:** 1005-9903(2004)03-0008-02

复方葶苈子胶囊是在经验方复方葶苈子汤的基础上研制而成的科研制剂, 处方由葶苈子、黄芩、桂枝、甘草等 8 味中药组成, 临床研究表明, 复方葶苈子胶囊对肺心病合并心衰有较好的疗效。为了有效地控制制剂质量, 本文建立了黄芩、桂枝、甘草的 TLC 定性鉴别; 采用高效液相色谱法对产品中黄芩苷进行含量测定, 并进行了方法学研究, 现报告如下。

1 仪器与试药

LC-6A 高效液相色谱仪(日本岛津); 黄芩苷、桂皮醛、甘草对照药材(由中国药品生物制品检定所提供); 复方葶苈子胶囊及其阴性样品(由湖南省中医药研究院附属医院制剂室提供); 试剂均为分析纯。

2 定性鉴别

2.1 黄芩 取本品 10 粒, 倾出内容物, 加乙醇 50ml 超声处理 30min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 10ml 使溶解, 用水饱和的正丁醇萃取 3 次(20、20、10ml), 合并正丁醇液, 用正丁醇饱和的水 20ml 洗涤一次, 弃去水液, 正丁醇液置水浴蒸干, 残渣加乙醇 1ml 使溶解, 作为供试品溶液; 取黄芩对照药材 0.5g, 同法制成对照药材溶液; 再取缺黄芩的样品同法制成阴性样品溶液。另取黄芩苷对照品, 加乙醇制成 1ml 含 1mg 的溶液, 作为对照品液。吸取上述供试品溶液、对照药材溶液、对照品溶液与阴性样品溶液各 10 μ l, 分别点于同一 0.2% 醋酸钠硅胶 G 薄层板上, 照薄层色谱法(《中国药典》2000 年版一部附录 VIB) 试验, 以醋酸乙酯-丁酮-甲酸-水(10: 8: 1.5: 1.5) 为展

开剂, 展距约 15cm, 取出, 晾干。供试品色谱中, 在与对照品、对照药材色谱相对应的位置上, 显相同颜色的斑点, 而阴性样品无此斑点。

2.2 桂枝 取本品 5 粒, 倾出内容物, 加乙醇 5ml, 温浸 30min, 时时振摇, 滤过, 滤液作为供试品溶液; 取桂枝对照药材 1g, 同法制成对照药材溶液; 再取缺桂枝的样品同法制成阴性样品溶液。另取桂皮醛对照品, 加乙醇制成 1ml 含 1 μ l 的溶液, 作为对照品溶液, 吸取供试品溶液、对照药材溶液、阴性样品溶液各 15 μ l, 对照品溶液 2 μ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 照薄层色谱法(《中国药典》2000 年版一部附录 VIB) 试验, 以石油醚(60~ 90 $^{\circ}$ C)-醋酸乙酯(17: 3) 为展开剂, 展距约 10cm, 取出, 晾干, 喷以二硝基苯胍乙醇液至斑点清晰。供试品色谱中, 在与对照品、对照药材色谱相对应的位置上, 显相同的橙红色斑点, 而阴性样品无此斑点。

2.3 甘草 取本品 20 粒, 倾出内容物, 加乙醇 50ml, 超声处理 20min 滤过, 滤液蒸干。残渣加水 80ml 分次溶解, 转入分液漏斗中, 用乙醚萃取 4 次(20、10、10、10ml), 弃去醚层, 水层以水饱和的正丁醇萃取 4 次(20、20、10、10ml), 合并正丁醇液, 用水洗涤 2 次(每次 20ml), 弃去水层, 正丁醇液蒸干, 残渣加 2ml 乙醇溶解, 加少许中性氧化铝拌匀, 水浴蒸干后装入已处理好的中性氧化铝柱(100~ 200 目, 4g, 内径 15mm) 顶部, 以醋酸乙酯-乙醇(3: 2) 70ml 洗脱, 弃去, 再以乙醇 30ml 洗脱, 弃去, 收集 50% 乙醇洗脱液 100ml, 水浴蒸干, 残渣加乙醇 1ml 使溶解, 作为供试品溶液; 另取甘草对照药材 2g, 同法制成对照药材溶液, 再取缺甘草的阴性样品, 同法制成阴性样品溶

液。吸取上述供试品溶液、对照药材溶液、阴性样品溶液各 30 μ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 照薄层色谱法(《中国药典》2000 年版一部) 试验, 以氯仿-醋酸乙酯-甲醇(40: 5: 15) 为展开剂, 展距为 12cm 时, 取出, 晾干, 喷以 5% 茴香醛溶液, 热风吹至斑点清晰。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相对应的位置上, 显相同颜色的斑点; 阴性样品无此斑点。

3 含量测定

3.1 色谱条件 色谱柱为 YWG-C₁₈ 250 \times 4.6mm 10 μ m

流动相: 甲醇-水(45: 55), (内含 0.4% H₂PO₄);

检测波长: 280nm; 灵敏度 0.02AuFs; 柱温, T 室温; 流量 F= 1.00 ml/min

3.2 标准曲线的制备 分别精密吸取浓度为 58.2、77.6、97.0、116.4、135.8、155.2 μ g/ml 的黄芩苷对照品溶液 10 μ l, 注入液相色谱仪, 测定峰面积。结果回归方程为: $A = 908.7176C + 107.7668$, $r = 0.9992$ 。线性范围为: 58.2~ 155.2 μ g/ml。

3.3 空白试验 取不含黄芩苷的阴性样品按“3.8”项下的方法进行处理及测定。结果阴性样品在与黄芩苷对照品相同保留时间处, 无干扰峰出现, 表明处方中其它药味对测定结果无影响。

3.4 精密度试验 精密吸取对照品溶液 10 μ l, 重复进样 7 次, 测定黄芩苷含量。结果 RSD 为 2.56%, 表明仪器的精密度良好。

3.5 稳定性试验 精密吸取供试品溶液(批号 011207), 于 0h、0.5h、1h、2h、4h 测定峰面积, 结果 RSD 为 0.098%, 表明供试液在 4h 内基本稳定。

3.6 重复性试验 取同一批号(011207) 样品 5 份, 按“3.8”项下制得供试品溶液并测定黄芩苷含量, 经计算平均含量为 3.00%, RSD 为 1.50%。

3.7 加样回收率试验 取已知黄芩苷含量的样品(011207) 适量, 精密称定, 分别加入黄芩苷对照品溶液, 按“3.8”项下测定含量, 计算回收率, 结果平均回收率为 97.3%, RSD 为 1.23%, $n = 6$ 。结果见表 1。

3.8 供试品、对照品溶液的制备及测定 对照品溶液的制备: 精密称取在 60 $^{\circ}$ C 干燥 4h 的黄芩苷对照品, 加 70% 乙醇制成 1ml 含 194 μ g 的溶液, 作为对照

品溶液。

供试品溶液的制备: 取本品内容物约 130mg, 精密称定, 置 100ml 具塞锥形瓶中, 加入约 70% 乙醇 40ml, 超声处理 40min, 趁热滤过, 滤液置 50ml 容量瓶中, 用少量 70% 乙醇分次洗涤容器及残渣, 洗液于同一量瓶中, 加 70% 乙醇稀释至刻度, 摇匀, 备用。

测定法: 分别精密吸取对照品液与供试品液各 10 μ l 注入液相色谱仪, 测定, 计算黄芩苷含量, 结果见表 2。

表 1 回收率试验

样品中黄芩苷含量(mg)	加入黄芩苷(mg)	测得黄芩苷量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1.26	0.75	1.98	96.0		
1.27	0.75	2.01	98.7		
1.44	1.50	2.92	98.7	97.3	1.26
1.46	1.50	2.90	96.0		
1.63	2.25	3.81	96.9		
1.66	2.25	3.85	97.3		

表 2 样品测定结果($n = 3$)

批号	黄芩苷含量(%)	RSD(%)
0191207	2.37	1.27
0190316	2.08	1.47
0190822	2.64	2.16

4 讨论

本试验中黄芩、桂枝、甘草的 TLC 图谱斑点清晰, 无拖尾, 空白试验说明阴性样品无干扰, 具有专属性, 故列入质量标准。

本品处方中葶苈子目前尚无对照品提供, 故未作含量测定而选择方中臣药黄芩的主要化学成分黄芩苷作含量测定结果。

供试品溶液的制备中对提取溶剂进行了选择试验。首先采用甲醇提取, 结果供试品中黄芩苷峰与杂质峰分离不完全, 且杂质较多, 试验过程中柱效也下降较快, 经过试验摸索, 以采用 70% 乙醇为好。

参考文献:

- [1] 金华, 宋新波, 李彦, 等. HPLC 法测定双黄连滴丸中黄芩苷的含量[J]. 中草药, 2003, 34: 426.
- [2] 中华人民共和国药典, 一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 248.