

盆腔炎颗粒质量标准研究

吴宗好¹, 王晓华¹, 曹明成², 陶先进²

(1 安徽省医学科学研究所, 安徽 合肥 230061; 2 安徽省医药科技实业公司, 安徽 合肥 230022)

摘要: 采用薄层色谱法对盆腔炎颗粒中大血藤、紫花地丁、牡丹皮、当归、川芎进行鉴别, 并用 HPLC 法对制剂中芍药苷进行含量测定。平均回收率 98.27%, RSD 为 1.87%。

关键词: 盆腔炎颗粒; 质量标准; 芍药苷

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2002)04-0004-03

Quality Standard of Penqiangyan Granule

WU Zong-hao, WANG Xiao-hua, CAO Ming-cheng, TAO Xian-jin

(Anhui Institute of Medical Science, Hfei, 230061, China)

Abstract: Caulis sargentodoxae, herba voliae, cortex moutan, radix angelicae sinensis and rhizoma chuanxiong in Penqiangyan Granule were identified by TLC methods. Contents of paeoniflorin in the granule were determined by HPLC method. The average recovery and relative standard deviation were 98.27% and 1.87% respectively.

Key words: Penqiangyan; Granule Quality standard; Paeoniflorin

盆腔炎颗粒系由大血藤、紫花地丁、牡丹皮、白芍、当归、川芎等组成的中药三类新药, 具有清热化痰、祛湿止痛等功效。主治瘀热湿阻型慢性盆腔炎。本文建立了大血藤、紫花地丁、牡丹皮、当归、川芎的薄层色谱鉴别, 并用高效液相色谱法对其主要成分芍药苷(Paeoniflorin)进行含量测定。

1 仪器与试剂

Waters-600 型高效液相色谱仪, 996 型 PDA 二极管阵列紫外检测器, μ -BondapakTM C₁₈ 3.9 × 300mm 色谱柱(美国 WATERS); AD-2 型百万分之一电子天平(美国 PE); 定量毛细管(美国 Drummond); SB2200-T 型超声提取器(上海奥特赛恩斯仪器有限公司); 硅胶 G 薄层板(山东烟台化学工业研究所); 对照品: 芍药苷、丹皮酚、阿魏酸(中国药品生物制品检定所); 盆腔炎颗粒(安徽省医药科技实业公司); 乙腈(色谱纯), 其它化学试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 大血藤的鉴别 取本品 10g, 研细, 加甲醇超声提取 2 次(25, 25ml), 每次 30min, 滤过, 滤液浓缩至干, 加水 20ml 使溶解, 加乙醚 20ml 振摇提取, 弃去乙醚液, 水溶液用水饱和正丁醇提取二次, 每次 20ml, 合并正丁醇液, 用水 40ml 振摇洗涤 1 次, 弃去

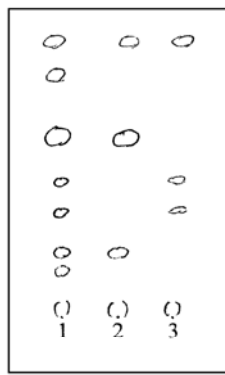
水洗液, 正丁醇液置水浴上蒸干, 残渣加甲醇 2ml 使溶解, 加硅胶(柱层析用, 160~200 目) 1g, 拌匀, 烘干, 研细, 加于硅胶柱(内径 2cm, 长 15cm, 硅胶 10g) 顶端, 以氯仿-甲醇-甲酸(20:4:1) 为展开剂进行干柱层析, 收集洗脱液 80ml, 水浴上挥干, 残渣加甲醇 2ml 使溶解, 作为供试品溶液。另取大血藤对照药材 2g, 加水 25ml 加热回流 1 小时, 滤过, 滤液加乙醚 20ml 振摇提取, 弃去乙醚液, 同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取上述两种溶液各 10 μ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-甲醇-甲酸(20:4:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 香草醛硫酸溶液。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同的樱红色斑点。见图 1。

2.2 紫花地丁的鉴别 取本品 10g, 研细, 加甲醇超声提取 2 次(25, 25ml), 每次 30min, 滤过, 滤液浓缩至干, 残渣加水 20ml 使溶解, 加乙醚 20ml 振摇提取, 弃去乙醚液, 水溶液用盐酸调 pH 值 2~3, 加醋酸乙酯提取 2 次(20, 20ml), 分取醋酸乙酯层, 水浴挥干, 残渣加水 3~5ml, 加热使溶解, 通过聚酰胺柱(内径 2cm, 聚酰胺 5g, 柱层析用, 14~30 目), 以水 50ml 洗脱, 弃去水液。再用乙醇 50ml 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣加甲醇 2ml 使溶解, 作为供试品溶液。另取紫花地丁对照药材 2g, 加水 25ml 加热回流

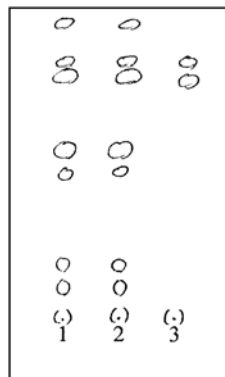
1 小时, 滤过, 滤液加乙醚 20ml 振摇提取, 弃去乙醚液, 同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法(中国药典 000 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取上述两种溶液各 10 μ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以醋酸乙酸-丙酮-甲酸(10: 1: 0.5) 为展开剂, 展开 15cm, 取出, 晾干, 喷以 1% 三氯化铝乙醇溶液, 置紫外光灯(365nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点。见图 2。

2.3 牡丹皮的鉴别 取本品 10g, 研细, 加水 50ml, 超声提取 30min, 用乙醚萃取 2 次, 每次 40ml, 低温挥干乙醚, 残渣加丙酮 1ml 使溶解, 作为供试品溶液。另取丹皮酚对照品, 加丙酮制成每 1ml 含 1mg 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取上述两种溶液各 5 μ l, 分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上, 以环己烷-醋酸乙酯(3: 1) 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, 显相同的暗红色淬灭荧光斑点。见图 3。

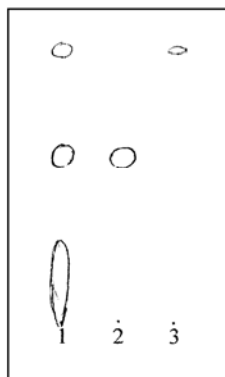
2.4 当归、川芎的鉴别 取本品 10g, 研细, 加乙醇 50ml, 超声提取 30min, 滤过, 滤液浓缩至干, 加水 20ml 使溶解, 加苯 20ml 振摇提取, 弃去苯液, 水溶液加盐酸调 pH 值 1~ 2, 用醋酸乙酯提取 2 次, 每次 20ml, 合并提取液, 蒸干, 残渣加乙醇 1ml 使溶解, 作为供试品溶液。另取当归对照药材 2g, 川芎对照药材 1g, 分别加水适量, 煎煮 30min, 滤过, 滤液浓缩至约 20ml, 加苯 20ml 振



1. 供试品
2. 大血藤对照药材
3. 阴性样品
图 1 盆腔炎颗粒中大血藤的 TLC 图谱



1. 供试品
2. 紫花地丁对照药材
3. 阴性样品
图 2 盆腔炎颗粒中紫花地丁的 TLC 图谱



1. 供试品
2. 丹皮酚对照品
3. 阴性样品
图 3 盆腔炎颗粒中牡丹皮的 TLC 图谱

摇提取, 弃去苯液, 水溶液同法制成对照药材溶液。再取阿魏酸对照品, 加乙醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取上述两种溶液各 10 μ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以苯-氯仿-冰醋酸(5: 5: 0.2) 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, 分别显相同颜色的荧光斑点; 在与对照品色谱相应的位置上, 显一相同的天蓝色荧光斑点。见图 4。

2.5 芍药苷的 HPLC 法测定及方法学考察

2.5.1 色谱条件与系统适应性试验 Waters μ -BondapakTM C₁₈ 色谱柱(3.9 \times 300mm); 0.05mol/L 磷酸二氢钾溶液-乙腈(85: 15) 为流动相; 检测波长为 230nm; 柱温为室温。

2.5.2 测定波长选择 同时用芍药苷对照品溶液在 200~ 300nm 范围进行紫外扫描测定, 结果芍药苷在 230 \pm 1nm 波长处有最大特征吸收, 因此, 选择 230nm 作为芍药苷的测定波长。

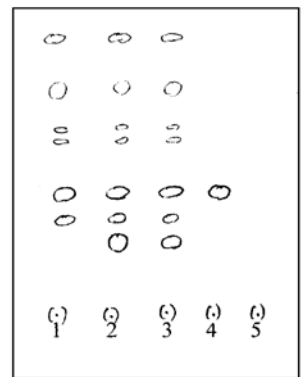
2.5.3 空白试验 按处方比例及工艺自制不含白芍、牡丹皮双阴性样品, 依法操作, 进行液相色谱分析, 结果供试品与芍药苷对照品有相同保留时间峰出现, 而阴性样品则无(见图 5)。

2.5.4 线性关系考察 精密吸取芍药苷对照品溶液(每 1ml 中含芍药苷 20、40、60、80、100、120 μ g) 各 10 μ l, 分别注入液相色谱仪中, 测定其色谱峰面积积分值。以进样量为横坐标, 相应色谱峰面积积分值为纵坐标绘制标准曲线。线性范围在 0.2~ 1.3 μ g 之间, 回归方程为 $Y = 1488407X - 37853$, $r = 0.9996$ 。表 1。

表 1 线性关系考察

进样量(μ g)	0.216	0.432	0.648	0.864	1.080	1.296
峰面积值	304951	593639	908591	1251501	1556472	1909140

2.5.5 稳定性试验 精密吸取芍药苷对照品溶液, 每隔 1h 进样 1 次, 连续 8h, 其峰面积平均值为 992356, $RSD = 0.68\%$ 。



1. 当归对照药材 2. 供试品
3. 川芎对照药材
4. 阿魏酸对照品
5. 阴性对照
图 4 盆腔炎颗粒中当归、川芎的 TLC 图谱

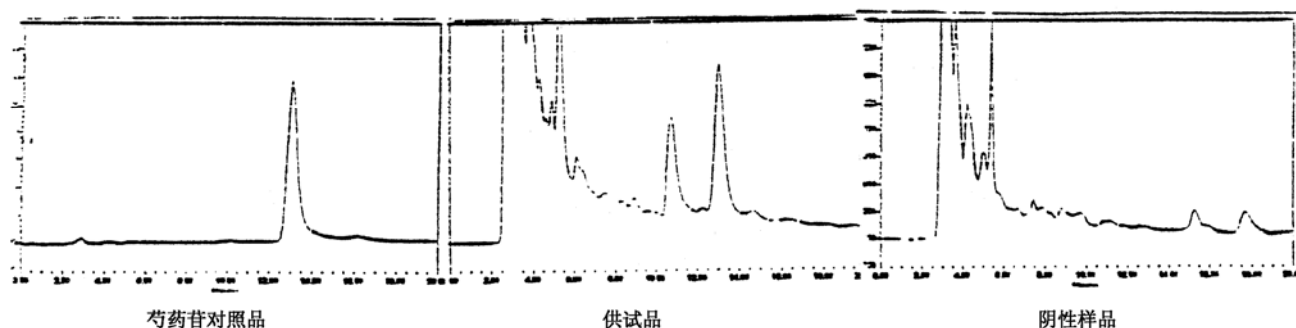


图 5 芍药苷对照品、供试品、阴性样品的 HPLC 图谱

2.5.6 精密度试验 精密吸取芍药苷对照品溶液重复进样 5 次, 其峰面积平均值为 991650, $RSD = 0.71\%$ 。

2.5.7 重现性试验 取同一批号, 依法重复操作测定 5 次, 测得芍药苷含量 (mg/g)。结果为 4.14, 4.03, 3.99, 4.15, 4.09; 平均含量为 4.08, $RSD = 1.70\%$ 。

2.5.8 回收率试验 采用加样回收法, 取已知含量的同一批号样品, 分别精密加入一定量的芍药苷对照品, 平行 5 份, 依法操作进样测定, 计算回收率。见表 2。

表 2 加样回收试验

序号	样品含量 (mg)	对照品加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)
1	1.0208	1.0062	2.0190	99.28
2	1.0249	1.0118	2.0378	100.112
3	1.0224	0.9988	1.9752	95.39
4	1.0180	1.0294	2.0234	97.66
5	1.0249	1.0168	2.0308	98.92

$\bar{X} = 98.27\%$, $RSD = 1.87\%$

2.5.9 样品测定 取本品细粉 0.5g, 精密称定, 置具塞三角烧瓶中, 精密加甲醇 50ml, 密塞, 称定重量, 超声提取 30min, 静置 4h, 称定重量, 用甲醇补充减失的重量, 摇匀, 滤过, 弃去初滤液, 精密吸取续滤液 10ml, 水浴蒸干, 残渣用流动相溶解并转移至 10ml 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 超声溶解, 用微孔滤膜 (0.45 μ m) 过滤。分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 20 μ l, 注入液相色谱仪中进行分析。见表 3。

3 讨论

3.1 方中大血藤、紫花地丁、牡丹皮、白芍、当归、川芎的薄层色谱鉴别, 阴性对照试验无干扰, 故予以收载。

表 3 盆腔炎颗粒中芍药苷的含量测定结果 (n=5)

样品批号	芍药苷 (mg/g)	RSD (%)
000505	4.05	1.11
000512	3.90	1.02
000519	4.14	1.20

3.2 制剂中的丹皮酚经 β -环糊精包合, 采用加水超声溶解, 乙醚萃取, 效果良好。丹皮酚熔点较低 (50 ~ 53 $^{\circ}$ C)^[1], 试验中应严格控制温度, 以免丹皮酚挥发损失。

3.3 方中牡丹皮、白芍分别为君、臣药, 芍药苷 (Paeoniflorin) 为其共有有效成分之一^[2], 选择测定其含量, 较具有代表性。

3.4 芍药苷的含量测定方法很多^[2] 选择 HPLC 法测定本品中芍药苷的含量, 具有方法灵敏、简便、重现性好等特点。可作为白芍、牡丹皮药材及其中药成方制剂的质量控制指标。

3.5 参阅文献^[3-4], 以 0.2mol/L 磷酸盐缓冲液 (PH7.44)-甲醇 (8:2), 甲醇-0.05mol/L 磷酸二氢钾溶液-醋酸-异丙醇 (67:173:4:4) 作流动相, 均未将芍药苷有效分离, 而选用 0.05mol/L 磷酸二氢钾溶液-乙腈 (85:15) 作流动相, 芍药苷峰形尖锐, 分离度好, 且保留时间适中。

参考文献:

- [1] 柯铭清. 中草药有效成分理化与药理特性[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1980. 27.
- [2] 阴健, 郭力弓. 中药现代研究与临床应用(1)[M]. 北京: 学苑出版社, 1995. 247, 363.
- [3] 王宝葵. 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. 250.
- [4] 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2000. 78.