

抗炎合剂的定性定量方法研究

刘为民

(海安县中医院, 江苏海安 226600)

摘要 目的:建立抗炎合剂的定性定量测定方法。方法:采用薄层色谱法对抗炎合剂中的黄芩、连翘进行定性鉴别,采用高效液相色谱法测定制剂中黄芩苷的含量。结果:薄层色谱斑点清晰,黄芩苷的含量鉴别方法专属性强,黄芩苷在 $0.84\sim 8.4\mu\text{g}$ 线性关系良好($r=0.9996$),加样回收率为 99.31% , RSD 为 0.31% ($n=6$)。结论:该方法可行,结果准确,可有效控制抗炎合剂的质量。

关键词 抗炎合剂 质量标准 黄芩 连翘

中图分类号 R289.5

文献标识码 A

文章编号 1672-397X(2014)11-0056-02

抗炎合剂是本院研制的纯中药制剂,方由黄芩、连翘、银花藤、皂角刺、蒲公英、野菊花、甘草组成,具有清热凉血、消肿排毒作用,用于痔疮、肛裂、肛窦炎、肛乳头炎及妇科炎症。多年临床研究表明,抗炎合剂疗效显著,无明显不良反应。为了保证药品质量和疗效,本研究采用薄层色谱法对抗炎合剂中的黄芩、连翘进行定性鉴定,采用高效液相色谱法测定抗炎合剂中黄芩苷的含量,制订了切实可行的质量控制标准,现报道如下。

1 仪器与试药

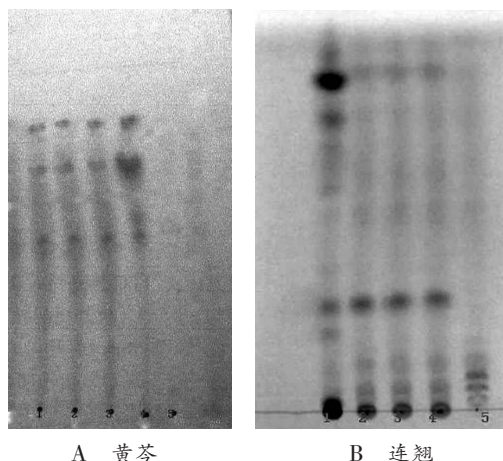
硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工厂);高效液相色谱仪;黄芩对照药材(中国药品生物制品检验研究所);连翘对照药材(中国药品生物制品检验研究所);甲醇、乙腈为色谱纯,其余试剂为分析纯;抗炎合剂为本院制剂室制备。

2 方法与结果

2.1 薄层鉴别 方法参考文献[1]。

2.1.1 黄芩的薄层鉴别 取本品 20mL,蒸干,残渣加乙醚 80mL,冷浸 4h,滤过,将滤液浓缩至干,残渣用 1mL 氯仿溶解,作为供试品溶液。另取黄芩对照药材 1g,同法制成对照品溶液。按处方量,取除黄芩外其余药味按工艺要求制成缺黄芩的样品,按供试品溶液的制备方法,制备阴性供试品溶液。按照薄层色谱法试验,吸取上述溶液各 $5\mu\text{L}$,分别点于同一氧化铝-CMC 薄层板上,以石油醚-氯仿(1:1)为展开剂,展开,取出,晾干。喷以碘化铋钾试剂显色。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照品不显斑点,见图 1-A。

2.1.2 连翘的薄层鉴别 取本品 20mL,蒸干,残渣用乙醚 20mL 超声提取 10min,乙醚挥散至干,残渣溶于乙醇 0.5mL 中,作为供试品溶液。另取连翘对照药材 1g,同法制成对照药材溶液。按处方量,取除连翘外其余药味按工艺要求制成缺连翘的样品,按供试品溶液的制备方法,制备阴性供试品溶液。按照薄层色谱法试验,吸取上述溶液各 $10\mu\text{L}$,分别点于同一硅胶 H 薄层板上,以氯仿-甲醇(20:1)为展开剂,展开,取出,晾干,10%硫酸喷雾后,于 110°C 加热 10min。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照品不显斑点,见图 1-B。



A 黄芩

B 连翘

图 1 抗炎合剂中黄芩、连翘的薄层鉴别

注:1 为黄芩或连翘对照药材;2-4 为抗炎合剂样品;5 为阴性供试品。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱为 Dikma Diamonsil C18

(250mm×4.6mm, 5μm)。流动相:乙腈(A)-0.02mol/L、磷酸二氢钾(B)作梯度洗脱——A:0~20min, 25%; 20~25min, 50%; 25~30min, 25%。流速 1.0mL/min; 检测波长 278nm; 柱温:室温(25℃)。

2.2.2 样品溶液的制备 方法参考文献[2]。对照品溶液的制备:称取黄芩苷对照品约 10.01mg, 精密称定, 甲醇溶解并定容于 25mL 容量瓶中, 即得黄芩对照品溶液。供试品溶液的制备:取抗炎合剂 20mL, 置三角烧瓶中, 精密加入 70%乙醇溶液 50mL, 回流提取 1h, 放冷, 滤过, 取滤液 1mL, 甲醇稀释定容于 5mL 容量瓶。阴性对照溶液的制备:取除黄芩外的处方量药材, 按照制剂制备工艺同法制得阴性样品, 取此阴性样品 50mL, 按供试品溶液方法制备, 即得。

2.2.3 系统适用性试验 在上述色谱条件下, 分别吸取 20μL 对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液依次进样。在供试品中黄芩苷成分得到较好分离, 黄芩苷色谱峰的保留时间与对照品溶液中黄芩苷的保留时间一致, 缺黄芩药材的阴性对照溶液色谱图中未出现黄芩苷色谱峰^[3], 见图 2。

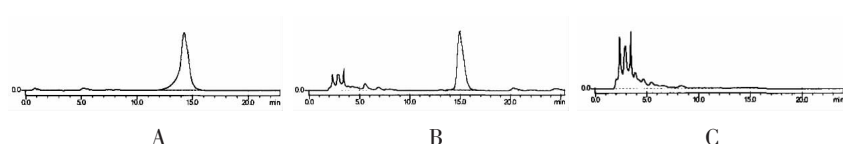


图 2 各样品色谱峰

注:A.对照品溶液;B.供试品溶液;C.阴性对照溶液

2.2.4 标准曲线的绘制 精密吸取对照品 2、4、6、8、10、20μL 进样, 按以上色谱条件测定。以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程为 $y=2653.72x+0.28$, $r=0.9996$ 。结果表明, 黄芩苷在进样量为 0.84~8.4μg 时线性关系良好。

2.2.5 稳定性试验 取同一供试品溶液, 在 2、4、8、12、18、20、24h 分别进样, 黄芩苷的 RSD 为 0.93%, 说明供试品在 24h 内稳定。

2.2.6 精密度试验 精密吸取供试品 10μL 进样, 连续进样 6 次, 进行测定。以峰面积计算黄芩苷的 RSD 为 1.9%, 结果表明精密度良好。

2.2.7 重复性试验 按“2.2.2”项下供试品溶液制备方法制备同一批号样品供试品溶液 5 份 ($n=5$), 按上述色谱条件, 分别精密吸取 20μL 进样, 平均峰面积为 277221, $RSD=1.31\%$ 。表明重复性良好。

2.2.8 加样回收试验 取已知含量的供试品约 5g, 精密称定, 共 6 份, 分别置于具塞锥形瓶中, 精密加入黄芩苷对照品溶液适量, 依法测定。结果见表 1。

表 1 抗炎合剂黄芩苷加样回收率测定

	取样量 (g)	原有量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	5.0012	7.5018	7.5018	14.89	99.24	99.31	0.31
2	5.0023	7.5035	7.5018	14.96	99.70		
3	5.0041	7.5061	7.5018	14.89	99.21		
4	5.0019	7.5029	7.5018	14.92	99.44		
5	4.9978	7.4967	7.5018	14.82	98.81		
6	5.0065	7.5098	7.5018	14.93	99.46		

2.2.9 样品含量测定 按对照品方法, 对抗炎合剂 3 个样品进行测定, 并计算含量, 结果见表 2。

表 2 3 个批号抗炎合剂中黄芩苷含量测定

序号	批号	测得量(mg/g)	RSD(%)
1	20140313	1.53	1.64
2	20140124	1.56	
3	20131219	1.51	

3 讨论

抗炎合剂方中黄芩性寒味苦, 具清热燥湿、泻火解毒之效, 为本方主要起效药物, 故以黄芩中黄芩苷的含量作为本制剂的质量控制标准。

根据《中华人民共和国药典》2010 年版规定, 黄芩苷的含量不得低于 9.0%, 根据处方计算黄芩苷含量应不得低于 0.72%, 经测定三个样品的含量分别为 1.53%、1.56%、1.51%, 均符合此要求, 故黄芩苷的含量可作为本制剂的质量标准控制。

经多批次检验, 证明抗炎合剂质量稳定, 本检验法快速简便, 适合医院制剂生产。

4 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典(一部). 北京: 化学工业出版社, 2010: 282
- [2] 骆方莲. 舒肝排石胶囊的制备与质控标准. 时珍国医国药, 2001, 75(12): 1095
- [3] 苗仁华, 许倩. HPLC 法测定茵栀黄注射液中的黄芩苷的含量. 中国医药指南, 2012, 10(24): 447

第一作者: 刘为民(1962-), 男, 本科学历, 副主任药师, 主要从事中药制剂、药品检验工作. haianzdm@163.com

收稿日期: 2014-04-10

编辑: 吴 宁

