

健脾止泻宁颗粒的质量标准提高研究

兰 杨^{1,2*}, 谯志文², 唐桂英², 周年华², 刘 勇², 吕珊珊^{2#}(1.成都中医药大学药学院, 成都 611137; 2.重庆希尔安药业有限公司, 重庆 401121)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)18-2568-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.18.34

摘要 目的:提高健脾止泻宁颗粒的质量标准。方法:采用薄层色谱法(TLC)对制剂中黄芩、山楂、金银花、党参、莲子、黄连进行定性鉴别;采用高效液相色谱法测定制剂中盐酸小檗碱、黄芩苷的含量;色谱柱为Shimadzu VP-ODS,流动相为甲醇-乙腈-水(46:30:24, V/V/V, 盐酸小檗碱)(含0.1%十二烷基磺酸钠和0.1%磷酸)、甲醇-0.4%磷酸溶液(50:50, V/V, 黄芩苷),流速为1.0 mL/min,检测波长为265 nm(盐酸小檗碱)、280 nm(黄芩苷),柱温为30 ℃,进样量为10 μL。结果:黄芩、山楂、金银花、党参、莲子、黄连的TLC图斑点清晰,分离度好,阴性对照无干扰。盐酸小檗碱、黄芩苷检测质量浓度线性范围分别为6.67~33.34 μg/mL($r=0.999\ 8$)、7.7~38.7 μg/mL($r=0.999\ 9$);精密度、稳定性、重复性试验的RSD<1.0%;加样回收率分别为96.5%~99.9%(RSD=1.2%, $n=6$)、101.1%~102.9%(RSD=0.6%, $n=6$)。结论:提高的标准可用于健脾止泻宁颗粒的质量控制。

关键词 健脾止泻宁颗粒;盐酸小檗碱;黄芩苷;质量标准;薄层色谱法;高效液相色谱法

Study on the Improvement of Quality Standard of Jianpi Zhixiening Granules

LAN Yang^{1,2}, QIAO Zhiwen², TANG Guiying², ZHOU Nianhua², LIU Yong², LYU Shanshan²(1.College of Pharmacy, Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China; 2.Chongqing Healan Pharmaceutical Co., Ltd., Chongqing 401121, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To improve the quality standard of Jianpi zhixiening granules. METHODS: TLC was applied for qualitative identification of *Scutellaria baicalensis*, *Crataegi Fructus*, *Lonicerae japonicae*, *Codonopsis Radix*, *Nelumbo nucifera*, *Coptidis Rhizoma*. The contents of berberine hydrochloride and baicalin were determined by HPLC. The determination was performed on Shimadzu VP-ODS column with mobile phase consisted of methanol-acetonitrile-water (46:30:24, V/V/V, berberine hydrochloride) (0.1% sodium dodecylsulphate, 0.1% phosphoric acid, methanol-0.4% phosphoric acid (50:50, V/V, baicalin) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelengths were set at 265 nm (berberine hydrochloride) and 280 nm (baicalin). The column temperature was 30 ℃, and sample size was 10 μL. RESULTS: TLC spots of *S. baicalensis*, *Crataegi Fructus*, *L. japonicae*, *Codonopsis Radix*, *N. nucifera*, *Coptidis Rhizoma* were clear and well-separated without negative interference. The linear ranges of berberine hydrochloride and baicalin were 6.67-33.34 μg/mL($r=0.999\ 8$) and 7.7-38.7 μg/mL($r=0.999\ 9$). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 1.0%. The recoveries were 96.5% -99.9% (RSD=1.2%, $n=6$) and 101.1% -102.9% (RSD=0.6%, $n=6$). CONCLUSIONS: Improved standard can be used for quality control of Jianpi zhixiening granules.

KEYWORDS Jianpi zhixiening granules; Berberine hydrochloride; Baicalin; Quality standard; TLC; HPLC

[10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版. 北京:中国医药科技出版社, 2015:397-398.

[11] 马月光, 李进, 刘鑫, 等. 仿生提取ICP-OES测定4种含雄黄中成药中酸溶性重金属和总重金属含量[J]. 中华中医药学刊, 2014, 27(3):647-649.

[12] 张莲婷, 郭巧生, 叶正良. 麦冬类药材种植土壤和药材中有机氯农药及重金属残留分析[J]. 中国中药杂志, 2010, 40(9):1100-1103.

[13] 杨一兵, 齐媛媛, 杨惠霞, 等. 中药重金属污染风险评估研

究进展[C]//2014中国环境科学学会学术年会汇编. 北京:中国环境科学学会, 2014:5.

[14] 林龙勇, 于冰冰, 廖晓勇, 等. 三七及其中药制剂中砷和重金属含量及健康风险评估[J]. 生态毒理学报, 2013, 8(2):244-249.

[15] 赵连华, 杨银慧, 胡一晨, 等. 我国中药材中重金属污染现状分析及对策研究[J]. 中草药, 2014, 45(9):1199-1206.

[16] 朱影影. 植物中的重金属形态、分布及其毒性研究进展[J]. 淮南职业技术学院, 2011, 11(3):68-70.

[17] 杨蕾. 中药材种植环境中重金属形态及其影响因素研究[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(24):9940-9942.

(收稿日期:2016-03-28 修回日期:2016-05-27)

(编辑:张 静)

* 硕士研究生。研究方向:中药新制剂与新技术。E-mail: 1653531156@qq.com

通信作者:高级工程师。研究方向:中药制剂。电话: 023-81660346。E-mail: 33657849@qq.com

健脾止泻宁颗粒由党参、莲子、白扁豆、黄连、黄芩、金银花、山楂、车前子(盐炙)、建曲、干姜等10味中药材组合而成,具有清热除湿、健脾止泻的功效,临床上用于治疗小儿脾虚湿热所致的腹泻^[1]。该制剂现执行国家药品标准,但为了更好地控制其内在质量,有必要对现行标准开展修订、提高研究。本研究采用薄层色谱法(TLC)对制剂中黄芩、山楂、金银花、党参、莲子、黄连6味药材进行定性鉴别,采用高效液相色谱法(HPLC)对制剂中盐酸小檗碱、黄芩苷进行定量分析,为其质量标准提高提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

LC-2010AHT型HPLC仪,包括紫外检测器(日本Shimadzu公司);KQ-500B型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率:200 W,频率:40 kHz);CP225D型电子分析天平(北京赛多利斯仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

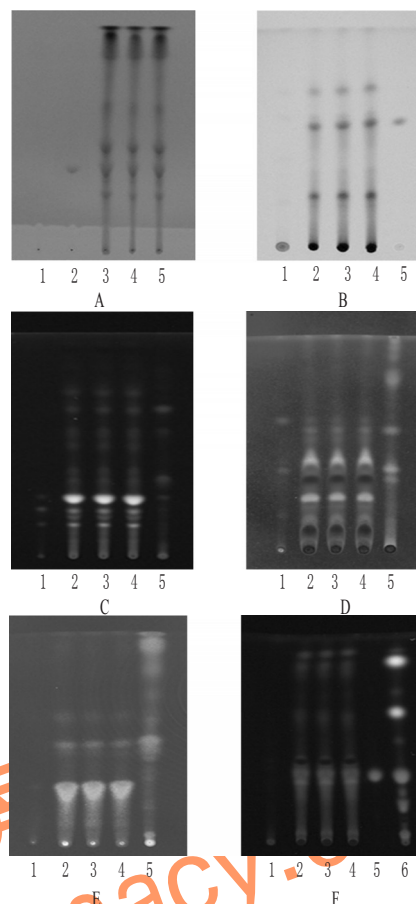
健脾止泻宁颗粒(重庆希尔安药业有限公司,批号:160901、160902、160903,规格:3 g/袋);黄芩苷对照品(批号:110715-201318,纯度:93.3%)、熊果酸对照品(批号:110742-201421,纯度:93.8%)、盐酸小檗碱对照品(批号:110713-201212,纯度:86.7%)、金银花对照药材(批号:121060-201107)、党参对照药材(批号:121057-201206)、莲子对照药材(批号:120913-201310)、黄连对照药材(批号:120913-201310)均购自中国食品药品检定研究院;硅胶G薄层板(天津天光光学仪器有限公司);甲醇、乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别

2.1.1 黄芩 取样品内容物3 g,研细,超声处理(每次15 min,加甲醇40 mL)2次,滤过,合并滤液,蒸干,残渣加热水40 mL使溶解,用水饱和的正丁醇振摇2次,合并正丁醇液,蒸干,残渣加甲醇1 mL使溶解,作为供试品溶液。取黄芩苷对照品适量,加甲醇制成黄芩苷质量浓度为1 mg/mL的对照品溶液。按健脾止泻宁颗粒处方和工艺制备缺黄芩的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按TLC法[2015年版《中国药典》(四部)]^[2]试验,取上述3种溶液各5 μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以乙酸乙酯-丁酮-甲酸-水(5:3:1:1, V/V/V/V)为展开剂,预饱和30 min,展开,取出,晾干,以1%三氯化铁乙醇溶液,置日光下检视。结果,供试品色谱中,在与对照品色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰,详见图1A。

2.1.2 山楂 取熊果酸对照品适量,加甲醇制成熊果酸质量浓度为1 mg/mL的对照品溶液。按健脾止泻宁颗粒处方和工艺制备缺山楂的阴性样品,按“2.1.1”项下供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按TLC法[2015



A.黄芩:1.阴性对照,2.对照品,3~5.供试品。B.山楂:1.阴性对照;2~4.供试品;5.对照品。C.金银花:1.阴性对照;2~4.供试品;5.对照药材。D.党参:1.阴性对照;2~4.供试品;5.对照药材。E.莲子:1.阴性对照;2~4.供试品;5.对照药材。F.黄连:1.阴性对照;2~4.供试品;5.对照品;6.对照药材

A. *Scutellaria baicalensis*: 1. negative control; 2. substance control; 3-5. test samples. B. *Crataegi Fructus*: 1. negative control; 2-4. test samples; 5. substance control. C. *Lonicerae japonicae*: 1. negative control; 2-4. test samples; 5. reference substance. D. *Codonopsis Radix*: 1. negative control; 2-4. test samples; 5. reference substance. E. *Nelumbo nucifera*: 1. negative control; 2-4. test samples; 5. reference substance. F. *Coptidis Rhizoma*: 1. negative control; 2-4. test samples; 5. substance control; 6. reference substance

图1 薄层色谱图

Fig 1 TLC chromatograms

年版《中国药典》(四部)]^[2]试验,量取“2.1.1”项下供试品溶液和上述2种溶液各5 μL,分别点于以含0.1 mol/L磷酸氢二钠的羧甲基纤维素钠溶液制备的同一硅胶G薄层板^[3]上,以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(20:4:0.5, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以硫酸乙醇溶液(3→10),80℃加热至斑点显色清晰,置日光下检视。结果,供试品色谱中,在与对照品色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰,详见图1B。

2.1.3 金银花 取样品3 g,研细,超声处理2次(每次15 min,加甲醇40 mL),滤过,合并滤液,蒸干,残渣加甲醇2 mL使溶解,作为供试品溶液。取金银花对照药材1 g,加甲醇10 mL,超声处理30 min,滤过,滤液蒸干,残渣

加甲醇 1 mL 溶解,作对照药材溶液。按健脾止泻宁颗粒处方和工艺制备缺金银花的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按 TLC 法[2015年版《中国药典》(四部)]^[2]试验,量取上述 3 种溶液各 5 μL ,分别点于以羧甲基纤维素钠为黏合剂的同一硅胶 G 薄层板^[4]上,以乙酸丁酯-甲酸-水(8:2.5:2.5, $V/V/V$)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 1% 三氯化铁乙醇溶液,置日光下检视。结果,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰,详见图 1C。

2.1.4 党参 取党参对照药材 0.5 g,超声处理(每次 15 min,加甲醇 40 mL)2 次,滤过,合并滤液,蒸干,残渣加热水 40 mL 使溶解,用水饱和的正丁醇振摇提取 2 次(每次 20 mL);合并正丁醇液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为对照药材溶液。按健脾止泻宁颗粒处方和工艺制备缺党参的阴性样品,按“2.1.1”项下供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按 TLC 法[2015年版《中国药典》(四部)]^[2]试验,量取“2.1.1”项下供试品溶液和上述 2 种溶液各 10 μL ,分别点于以羧甲基纤维素钠为黏合剂的同一硅胶 G 薄层板上,以甲苯-丙酮(9:1, V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以新配制的 20% 高氯酸乙醇溶液,105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰,置紫外灯(365 nm)下检视。结果,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰,详见图 1D。

2.1.5 莲子 取样品 3 g,研细,加三氯甲烷 20 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加乙酸乙酯 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。取莲子对照药材 2.5 g,同供试品制备方法制成对照药材溶液。按健脾止泻宁颗粒处方和工艺制备缺莲子的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按 TLC 法[2015年版《中国药典》(四部)]^[2]试验,量取上述 3 种溶液各 10 μL ,分别点于以羧甲基纤维素钠为黏合剂的同一硅胶 G 薄层板上,以环己烷-丙酮(7:2, V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以含 1% 香草醛的 10% 硫酸乙醇溶液,105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰,置紫外灯(365 nm)下检视。结果,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰,详见图 1E。

2.1.6 黄连 取“2.1.3”项下供试品溶液 2 mL,加甲醇稀释至 5 mL,作为供试品溶液。另取盐酸小檗碱对照品,加甲醇制成盐酸小檗碱质量浓度为 0.5 mg/mL 的对照品溶液。再取黄连对照药材 0.25 g,加甲醇 25 mL,超声处理 30 min,滤过,取滤液,作为对照药材溶液。按健脾止泻宁颗粒处方和工艺制备缺黄连的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按 TLC 法[2015年版《中国药典》(四部)]^[2]试验,量取上述 4 种溶液各 1 μL ,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯-异丙醇-甲醇-水-三乙胺(3:3.5:1:1.5:0.5:1, $V/V/V/V/V/V$)为展开剂^[6],置于氨蒸气饱和的展开缸内预饱和 20 min,展开,取出,晾

干,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果,供试品色谱中,在与对照药材和对照品色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰,详见图 1F。

2.2 盐酸小檗碱的含量测定

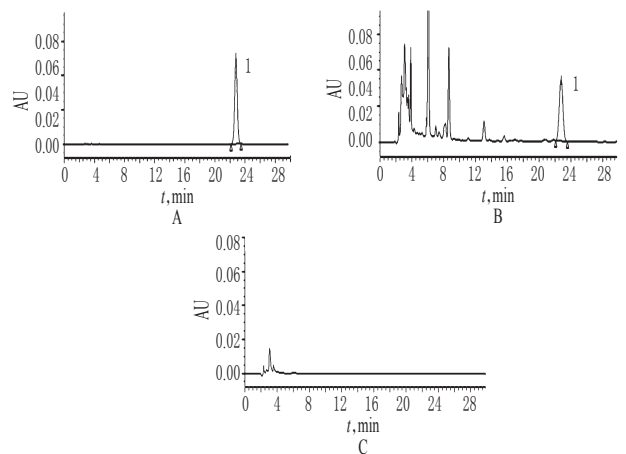
2.2.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱:Shimadzu VP-ODS(150 mm \times 4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-乙腈-水(46:30:42, $V/V/V$)(含 0.1% 十二烷基磺酸钠和 0.1% 磷酸);流速:1.0 mL/min;检测波长:265 nm;柱温:30 $^{\circ}\text{C}$;进样量:10 μL ^[6]。在上述色谱条件下,理论板数以盐酸小檗碱峰计不少于 2 000;各成分基线分离良好,分离度 > 1.5。

2.2.2 对照品溶液的制备 取盐酸小檗碱对照品适量,精密称定,加甲醇制成盐酸小檗碱质量浓度为 333.4 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取样品适量,研细,取约 0.1 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加盐酸-甲醇(1:100, V/V)25 mL,称定质量,超声处理 20 min,放冷,再次称定质量,用盐酸-甲醇(1:100, V/V)补足减失的质量,摇匀,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2.4 阴性对照溶液的制备 按健脾止泻宁颗粒处方和工艺制备缺黄连的阴性样品,按“2.2.3”项下方法制成阴性对照溶液。

2.2.5 专属性试验 取上述对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各适量,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图 2。结果,供试品中盐酸小檗碱与对照品在相同保留时间处有相同色谱峰,并与其他组分峰基线分离较好,且阴性对照不出峰。



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 盐酸小檗碱
A. substance control; B. test sample; C. negative control; 1. berberine hydrochloride

图 2 盐酸小檗碱的高效液相色谱图

Fig 2 HPLC chromatograms of berberine hydrochloride

2.2.6 线性关系考察 分别精密量取“2.2.2”项下对照品溶液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,加甲醇定容,制成系列对照品溶液。精密量取上述系列对照品溶液各 10 μL ,按“2.2.1”项下色谱条件进样

测定,记录峰面积。以盐酸小檗碱质量浓度(x , $\mu\text{g/mL}$)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得盐酸小檗碱回归方程 $y=52\ 633x+930.3(r=0.999\ 8)$ 。结果表明,盐酸小檗碱检测质量浓度线性范围为 $6.67\sim 33.34\ \mu\text{g/mL}$ 。

2.2.7 精密度的试验 取“2.2.6”项下质量浓度为 $24\ \mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液适量,按“2.2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,盐酸小檗碱峰面积的RSD为 0.3% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.2.8 稳定性试验 取“2.2.3”项下供试品溶液(批号:160901)适量,分别于室温下放置 $0, 2, 4, 6, 8, 12, 24\ \text{h}$ 时按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,盐酸小檗碱峰面积的RSD为 0.8% ($n=7$),表明供试品溶液室温放置 $24\ \text{h}$ 内基本稳定。

2.2.9 重复性试验 精密称取同一批样品(批号:160901)适量,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算含量。结果,盐酸小檗碱含量的平均值为 $5.72\ \text{mg/g}$, RSD为 0.4% ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.2.10 加样回收率试验 取已知含量样品(批号:160901)适量,共6份,分别加入一定质量的盐酸小檗碱对照品,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果 ($n=6$)

Tab 1 Results of recovery tests ($n=6$)

待测成分	取样量, g	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
盐酸小檗碱	0.053 1	0.303 7	0.333 4	0.625 4	96.5	98.2	1.2
	0.050 7	0.290 0	0.333 4	0.614 4	97.3		
	0.052 2	0.298 6	0.333 4	0.627 9	98.8		
	0.056 3	0.322 0	0.333 4	0.650 0	98.4		
	0.051 1	0.292 3	0.333 4	0.620 8	98.5		
	0.055 8	0.319 2	0.333 4	0.652 4	99.9		
	0.391 7	3.356 9	3.144 4	6.560 3	101.9		
0.381 1	3.266 0	3.144 4	6.500 1	102.9			
0.373 4	3.200 0	3.144 4	6.409 5	102.1			
0.372 4	3.191 5	3.144 4	6.386 6	101.6			
0.380 8	3.263 5	3.144 4	6.457 8	101.6			
0.372 9	3.195 8	3.144 4	6.376 0	101.1			

2.2.11 样品中盐酸小檗碱含量测定 取3批样品各适量,分别按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量,结果见表2。

2.3 黄芩苷的含量测定

2.3.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱:Shimadzu VP-ODS($150\ \text{mm}\times 4.6\ \text{mm}, 5\ \mu\text{m}$);流动相:甲醇- 0.4% 磷

表2 样品含量测定结果 ($n=3, \text{mg/粒}$)

Tab 2 Results of contents determination of samples ($n=3, \text{mg/capsule}$)

样品批号	盐酸小檗碱	黄芩苷
160901	21.5	16.4
160902	21.4	16.7
160903	21.5	16.8

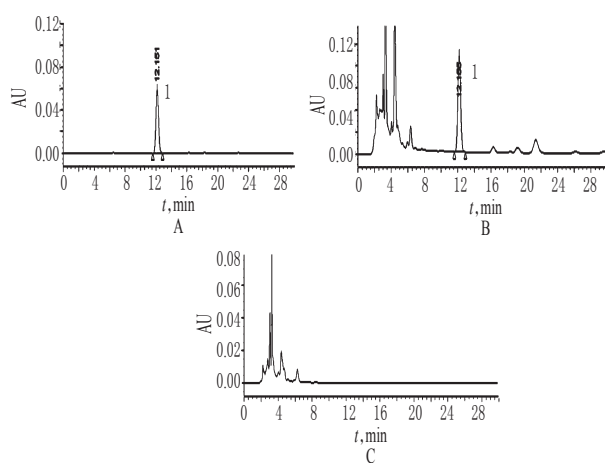
酸溶液($50:50, V/V$);流速: $1.0\ \text{mL/min}$;检测波长: $280\ \text{nm}$;柱温: $30\ ^\circ\text{C}$;进样量: $10\ \mu\text{L}$ 。在上述色谱条件下,理论板数以黄芩苷峰计不少于 $3\ 000$;各成分基线分离良好,分离度 >1.5 。

2.3.2 对照品溶液的制备 取黄芩苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成黄芩苷质量浓度为 $387\ \mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 取样品适量,研细,取约 $0.6\ \text{g}$,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加甲醇 $50\ \text{mL}$,称定质量,超声处理 $30\ \text{min}$,放冷,再次称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,经 $0.45\ \mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.3.4 阴性样品溶液的制备 按健脾止泻宁颗粒处方和工艺制备缺黄芩的阴性样品,按“2.3.3”项下制备方法制成阴性对照溶液。

2.3.5 专属性试验 取上述对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各适量,按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图3。结果,供试品溶液中,黄芩苷与对照品在相同保留时间有相同色谱峰,并与其他组分峰基线分离较好,且阴性对照不出峰。



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 黄芩苷

A. substance control; B. test sample; C. negative control; 1. baicalin

图3 黄芩苷的高效液相色谱图

Fig 3 HPLC chromatograms of baicalin

2.3.6 线性关系考察 分别精密量取“2.3.2”项下对照品溶液 $0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0\ \text{mL}$,分别置于 $10\ \text{mL}$ 量瓶中,加甲醇定容,制成系列对照品溶液。精密量取上述

系列对照品溶液各 10 μL ,按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以黄芩苷质量浓度($x, \mu\text{g/mL}$)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得黄芩苷回归方程 $y=59\ 721x-154.5(r=0.999\ 9)$ 。结果表明,黄芩苷检测质量浓度线性范围为 7.7~38.7 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.3.7 精密度试验 取“2.3.6”项下质量浓度为 23.2 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液适量,按“2.3.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次,记录峰面积。结果,黄芩苷峰面积的 RSD 为 0.3% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.3.8 稳定性试验 取“2.3.3”项下供试品溶液(批号:20160901)适量,分别于室温下放置 0、2、4、6、8、12、24 h 时按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,黄芩苷峰面积的 RSD 为 0.6% ($n=7$),表明供试品溶液室温放置 24 h 内基本稳定。

2.3.9 重复性试验 精密称取同一批样品(批号:20160901)适量,按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,共 6 份,再按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算含量。结果,黄芩苷含量的平均值为 8.57 mg/g ,RSD 为 0.5% ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.3.10 加样回收率试验 取已知含量样品(批号:20160901)适量,共 6 份,分别加入一定质量的黄芩苷对照品,按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表 1。

2.3.11 样品中黄芩苷含量测定 取 3 批样品各适量,分别按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量,结果见表 2。

3 讨论

在 TLC 鉴别中,原标准使用了氯仿、正己烷等毒性较大试剂作展开剂^[2-7],本研究在原标准基础上优化了黄芩、山楂、金银花、党参的 TLC 鉴别方法,并新增了莲子、黄连的 TLC 鉴别方法。为了考察 TLC 系统的耐用性,预试验中采用 5、20 $^{\circ}\text{C}$,高湿(70%)和低湿(20%)4 种条件进行试验,并采用了自制和预制硅胶 G 薄层板进行试验。结果表明,TLC 图斑点清晰,分离度好,阴性对照无干扰。

黄连、黄芩为方中臣药,具有清热燥湿、解毒的功效。故笔者选择盐酸小檗碱与黄芩苷的含量作为本制剂的质控指标。笔者在定量分析过程中拟参考文献[8]通过梯度洗脱的方式建立同时测定盐酸小檗碱、黄芩苷的方法,但在多次试验后发现,方法重复性差、耐用性不好,不利于实际产品的检验,因此最终确定分别建立二者含量测定方法。为了考察方法的耐用性,预试验中使用不同 HPLC 仪与不同色谱柱,所得数据的 RSD 均 < 1.5%,表明方法耐用性好。

健脾止泻宁颗粒虽已上市多年,但仍有必要对其质量进行持续不断地改进、提高,而加强其质控方法和标准研究,无疑是提高质量、保障疗效的重要手段。本研究提高的标准可用于健脾止泻宁颗粒的质量控制,可作为企业内控质量标准。

参考文献

- [1] 周年华,吕珊珊,谯志文,等.健脾止泻宁颗粒止泻作用的实验研究[J].世界中西医结合杂志,2016,11(2):190-195.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:57.
- [3] 王颖.山楂精降脂片中山楂薄层色谱鉴别方法研究[J].辽宁化工,2012,41(11):1229-1230.
- [4] 金兰兰.金银花中绿原酸和木犀草苷的薄层色谱鉴别方法分析[J].中国药物经济学,2014,9(2):22-23.
- [5] 王贤英.参芪颗粒中党参的薄层鉴别[J].重庆中草药研究,2009,12(1):8-9,13.
- [6] 涂星,唐洪梅,柴玉娜,等.反相高效液相色谱法测定肠激安胶囊中芍药苷、盐酸小檗碱和盐酸巴马汀含量[J].药物分析杂志,2015,35(1):115-120.
- [7] 彭明丽,赵冠人,温筱煦.HPLC 法同时测定茵栀黄颗粒中黄芩苷、木犀草素和绿原酸的含量[J].中国药房,2015,26(6):837-839.
- [8] 郝乘仪,郭淑英,冯波,等.RP-HPLC 法同时测定芎菊上清丸中绿原酸、盐酸小檗碱和黄芩苷的含量[J].药物分析杂志,2014,34(1):193-197.

(收稿日期:2016-12-27 修回日期:2017-02-23)

(编辑:张 静)