

# 柴葛感冒合剂的质量标准研究

陈倩倩<sup>1\*</sup>, 孙洪胜<sup>2#</sup> (1. 山东中医药大学药学院, 济南 250035; 2. 山东中医药大学附属医院, 济南 250011)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)03-0392-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.03.36

**摘要** 目的: 建立柴葛感冒合剂的质量标准。方法: 采用薄层色谱(TLC)法对制剂中黄芩、白芍进行定性鉴别。采用高效液相色谱法测定制剂中葛根素的含量; 色谱柱为 Zorbax Eclipse XDB-C<sub>18</sub>, 流动相为甲醇-水(25:75, V/V), 流速为 1.0 ml/min, 检测波长为 250 nm, 柱温为 25 ℃, 进样量为 5 μl。结果: TLC 图斑点清晰, 分离度好。葛根素检测质量浓度线性范围为 18~198 μg/ml ( $r=0.999\ 9$ ); 精密性、稳定性、重复性试验的 RSD < 2%; 加样回收率为 99.04%~99.75%, RSD=0.28% ( $n=6$ )。结论: 所建标准可用于柴葛感冒合剂的质量控制。

**关键词** 柴葛感冒合剂; 质量标准; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 黄芩; 白芍; 葛根素

## Study on the Quality Standard for Chaige Ganmao Mixture

CHEN Qianqian<sup>1</sup>, SUN Hongsheng<sup>2</sup> (1. School of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250035, China; 2. The Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250011, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the quality standard for Chaige ganmao mixture. METHODS: TLC was conducted to identify the *Scutellaria baicalensis* and *Paeonia lactiflora*; HPLC was conducted to determine the content of puerarin. The column was Zorbax Eclipse XDB-C<sub>18</sub> with mobile phase of methanol-water (25:75, V/V) at flow rate of 1.0 ml/min, detection wavelength was 250 nm, and column temperature was 25 ℃, and the injection volume was 5 μl. RESULTS: TLC showed clear spots and good separation. The linear range of puerarin was 18-198 μg/ml ( $r=0.999\ 9$ ); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%, recovery was 99.04%-99.75% (RSD=0.28%,  $n=6$ ). CONCLUSIONS: The standard can be used for the quality control of Chaige ganmao mixture.

**KEYWORDS** Chaige ganmao mixture; Quality standard; TLC; HPLC; *Scutellaria baicalensis*; *Paeonia lactiflora*; Puerarin

柴葛感冒合剂[批准文号: 济药管制(01)FZ009-03]是山东中医药大学附属医院的自制制剂, 由柴胡、葛根、黄芩、白芍、人工牛黄、金银花等 16 味药组成, 其处方遵从《伤寒六书》“柴葛解肌汤”, 并结合临床实际化裁而来, 具有解肌透表、清热解毒的功效, 对于感冒风寒、郁而化热证疗效显著<sup>[1-3]</sup>。本研究采用薄层色谱(TLC)法对制剂中黄芩、白芍进行定性鉴别, 并采用高效液相色谱(HPLC)法对制剂中葛根素进行含量测定, 以综合评价该制剂质量。

## 1 材料

### 1.1 仪器

1260 型 HPLC 仪, 包括二极管阵列检测器(美国 Agilent 公司); 电热恒温水浴锅(北京永光明医疗仪器有限公司); SK5200H 型超声波清洗仪(上海科导超声仪器有限公司); CP2250 型电子分析天平[奥豪斯仪器(上海)有限公司]。

### 1.2 药品与试剂

柴葛感冒合剂(山东中医药大学附属医院自制, 批号: 20140401、20140406、20140409, 规格: 250 ml/瓶); 黄芩苷对照品(批号: 110715-201318)、葛根素对照品(批号: 110752-201313)、芍药苷对照品(批号: 110736-201337)均购自中国食品药品检定研究院, 纯度均 ≥ 99%; 硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工厂); 甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为纯化水。

\* 硕士研究生。研究方向: 中药制剂新技术与新剂型。E-mail: 92591255@qq.com

# 通信作者: 主任药师, 硕士生导师。研究方向: 中药制剂新剂型新技术。E-mail: shs7777@163.com

## 2 方法与结果

### 2.1 定性鉴别

2.1.1 黄芩 取样品 30 ml, 用乙酸乙酯振荡提取 2 次, 每次 30 ml, 合并乙酸乙酯液, 蒸干, 残渣加甲醇 2 ml 使溶解, 作为供试品溶液。另取黄芩苷对照品适量, 加甲醇制成每 1 ml 含 1 mg 黄芩苷的对照品溶液。按柴葛感冒合剂处方和制备工艺制备缺黄芩的阴性样品, 按供试品溶液制备方法制备阴性对照溶液。按 TLC 法[2010 年版《中国药典》(一部)附录 VIB]<sup>[4]</sup> 试验, 吸取上述 3 种溶液各 10 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, 展开, 取出, 晾干, 喷以 1% FeCl<sub>3</sub> 乙醇溶液, 置可见光下检视。结果显示, 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, 且阴性对照无干扰, 详见图 1。

2.1.2 白芍 取样品 20 ml, 加乙醇 10 ml, 密塞, 轻摇 5 min, 室温放置 24 h, 滤过, 滤液挥干, 残渣加乙醇 1 ml 使溶解, 作为供试品溶液。另取芍药苷对照品适量, 加乙醇制成每 1 ml 含 1 mg 芍药苷的对照品溶液。按柴葛感冒合剂处方和制备工艺制备缺白芍的阴性样品, 按供试品溶液制备方法制备阴性对照溶液。按 TLC 法[2010 年版《中国药典》(一部)附录 VIB]<sup>[4]</sup> 试验, 吸取上述 3 种溶液各 10 μl, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(40:5:10:0.2, V/V/V/V) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 香草醛硫酸溶液, 加热至斑点显色清晰, 置可见光下检视。结果显示, 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, 且阴性对照无干扰, 详见图 2。

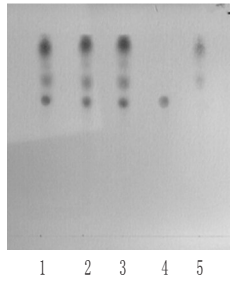


图1 黄芩的薄层色谱图

1~3.供试品;4.对照品;5.阴性对照

Fig 1 TLC chromatograms of *Scutellaria baicalensis*

1-3.test samples;4.reference substance;5.negative control

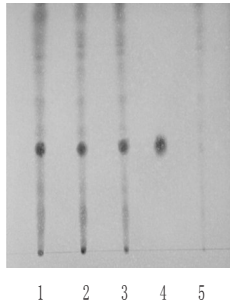


图2 白芍的薄层色谱图

1~3.供试品;4.对照品;5.阴性对照

Fig 2 TLC chromatograms of *Paeonia lactiflora*

1-3.test samples;4.reference substance;5.negative control

## 2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱: Zorbax Eclipse XDB-C<sub>18</sub> (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (25:75, V/V); 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 250 nm; 柱温: 25 °C; 进样量: 5 μl。在上述色谱条件下, 理论板数以葛根素峰计应不低于 4 000, 分离度 > 1.5, 各成分基线分离良好。色谱见图 3。

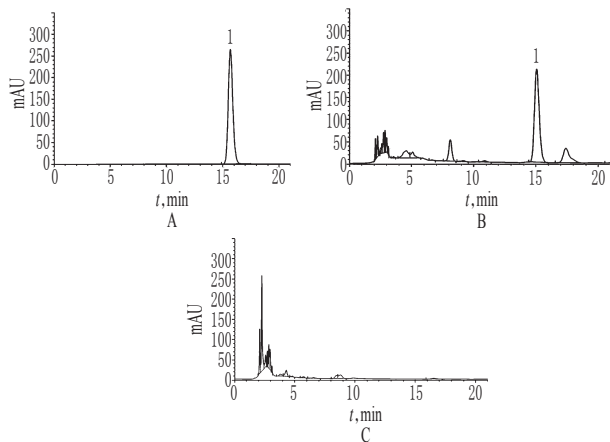


图3 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 葛根素

Fig 3 HPLC chromatograms

A. reference substance; B. test sample; C. negative control; 1. puerarin

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取葛根素对照品 5.40 mg, 置于 10 ml 量瓶中, 加 30% 乙醇溶解并定容, 摇匀, 制成每 1 ml 含 540 μg 葛根素的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密量取样品 1 ml, 置于 25 ml 量

瓶中, 加 30% 乙醇定容, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.4 阴性对照溶液的制备 按柴葛感冒合剂处方和制备工艺制备缺葛根的阴性样品, 按“2.2.3”项下方法制备阴性对照溶液。

2.2.5 线性关系考察 分别精密量取“2.2.2”项下对照品溶液适量, 用乙醇稀释制成质量浓度分别为 18、54、90、126、162、198 μg/ml 的系列对照品溶液。精密吸取上述系列对照品溶液各 5 μl, 按“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。以葛根素质量浓度 ( $x, \mu\text{g/ml}$ ) 为横坐标、峰面积 ( $y$ ) 为纵坐标进行线性回归, 得回归方程为  $y = 21.071x + 0.5029$  ( $r = 0.9999$ )。结果表明, 葛根素检测质量浓度线性范围为 18~198 μg/ml。

2.2.6 精密度试验 取“2.2.2”项下对照品溶液适量, 按“2.2.1”项下色谱条件连续进样 6 次测定, 记录峰面积。结果, 葛根素峰面积的 RSD = 0.95% ( $n = 6$ ), 表明仪器精密度良好。

2.2.7 稳定性试验 取“2.2.3”项下制备的供试品溶液 (批号: 20140401) 适量, 分别于放置 0、2、4、6、8、10 h 时进样测定, 记录峰面积。结果, 葛根素峰面积的 RSD = 0.75% ( $n = 6$ ), 表明供试品溶液在 10 h 内基本稳定。

2.2.8 重复性试验 精密称取同一批样品 (批号: 20140401) 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。结果, 葛根素峰面积的 RSD = 1.02% ( $n = 6$ ), 表明本方法重复性良好。

2.2.9 加样回收率试验 取已含量样品 (批号: 20140401) 适量, 共 6 份, 分别加入一定质量的葛根素对照品, 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, 计算葛根素含量并计算加样回收率, 结果见表 1。

表1 加样回收率试验结果 ( $n = 6$ )

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

取样量, ml	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, %
0.50	0.595 0	0.594 0	1.186 4	99.56	99.36	0.28
0.50	0.595 0	0.594 0	1.184 2	99.19		
0.50	0.595 0	0.594 0	1.183 9	99.14		
0.50	0.595 0	0.594 0	1.187 5	99.75		
0.50	0.595 0	0.594 0	1.185 9	99.48		
0.50	0.595 0	0.594 0	1.183 3	99.04		

2.2.10 样品含量测定 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并计算葛根素含量, 结果见表 2。

表2 样品含量测定结果 ( $n = 3$ )

Tab 2 Result of contents determination of samples ( $n = 3$ )

批号	葛根素含量, mg/ml
20140401	1.20
20140406	1.19
20140409	1.21

## 3 讨论

参照 2010 年版《中国药典》(一部) 黄芩的薄层鉴别方法, 以甲苯-乙酸乙酯-甲醇-甲酸 (10:3:1:2, V/V/V/V) 为展开剂, 但色谱峰分离度不理想。经过查阅文献资料<sup>[6]</sup>, 改进后采用乙酸乙酯-丁酮-甲酸-水 (5:3:1:1, V/V/V/V) 为展开剂, 结果色谱峰分离度好, 斑点清晰且阴性对照无干扰。对白芍进行薄层鉴别时, 笔者对样品处理时放置或未放置 24 h 两种方法进行了对比, 结果放置 24 h 的样品斑点更清晰, 最终选择了此方法。

# HPLC法同时测定儿泻停糖浆中黄芩苷、盐酸小檗碱、葛根素的含量

周越<sup>1\*</sup>, 陈建伟<sup>2#</sup>(1.南京中医药大学附属连云港市中医院药学部, 江苏连云港 222000; 2.南京中医药大学药学院, 南京 210046)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)03-0394-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.03.37

**摘要** 目的:建立同时测定儿泻停糖浆中葛根素、盐酸小檗碱、黄芩苷含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Kromasil C<sub>18</sub>,流动相为甲醇-0.2%磷酸水溶液(梯度洗脱),流速为1.0 ml/min,柱温为30℃,检测波长为275 nm,进样量为10 μl。结果:黄芩苷、盐酸小檗碱、葛根素的检测质量浓度线性范围分别为10.43~83.44、10.71~85.68、12.58~100.64 μg/ml;精密性、稳定性、重复性试验的RSD<2%;加样回收率分别为98.25%~100.87%、99.41%~101.40%、98.13%~99.76%,RSD分别为0.92%、0.68%、0.57%(n=9)。结论:该方法操作简便,结果可靠,可用于儿泻停糖浆的质量控制。

**关键词** 儿泻停糖浆;黄芩苷;盐酸小檗碱;葛根素;高效液相色谱法

**Simultaneous Determination of Puerarin, Berberine Hydrochloride and Baicalin in Erxieting Syrup by HPLC**  
ZHOU Yue<sup>1</sup>, CHEN Jianwei<sup>2</sup>(1.Dept. of Pharmacy, Lianyungang Affiliated Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Jiangsu Lianyungang 222000, China; 2.School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of puerarin, berberine hydrochloride and baicalin in Erxieting syrup. METHODS: HPLC was performed on the column of Kromasil-C<sub>18</sub> with mobile phase of methanol-0.2% Phosphoric acid solution (gradient elution) at flow rate of 1.0 ml/min, column temperature was 30 °C, detection wavelength was 275 nm, and the volume injection was 10 μl. RESULTS: The linear was 10.43-83.44 μg/ml for puerarin, 10.71-85.68 μg/ml for berberine hydrochloride and 12.58-100.64 μg/ml for baicalin ( $r \geq 0.999 3$ ); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%; recoveries were 98.25%-100.87% (RSD=0.92%, n=6), 99.41%-101.40% (RSD=0.68%, n=6) and 98.13%-99.76% (RSD=0.57%, n=6), respectively. CONCLUSIONS: The method is simple, reliable, can be used for the quality control of Erxieting syrup.

**KEYWORDS** Erxieting syrup; Puerarin; Berberine hydrochloride; Baicalin; HPLC

儿泻停糖浆是南京中医药大学附属连云港市中医院使用多年且安全稳定、疗效确切的院内制剂,由葛根、黄连、黄芩、苍术、白术、甘草、滑石、藿香、砂仁、诃子、芡实、石榴皮等14味中药精制而成,具有清肠化湿、涩肠止泻的功效,主要应用于小儿腹泻。本制剂原有质量标准较低,仅采用薄层色谱法定性鉴别,未对方中各味药成分进行含量测定。为提高该制剂

质量标准,适应现代中药制剂要求,保证临床疗效,本研究建立了以高效液相色谱(HPLC)法同时测定其中葛根、黄连、黄芩的主要活性成分葛根素、盐酸小檗碱、黄芩苷含量的方法。

## 1 材料

### 1.1 仪器

LC-1200型HPLC仪,包括Model 2000型检测器(美国

在葛根素供试品溶液制备时,选择30%乙醇<sup>[6]</sup>、30%甲醇、甲醇作为提取溶剂进行考察,结果表明30%乙醇为提取溶剂时提取较为完全。

柴葛感冒合剂处方中葛根为君药,由于葛根素为葛根的指标性成分,故本研究所建标准可用于柴葛感冒合剂的质量控制。

## 参考文献

[1] 赵淑芹.葛根的药理作用与临床应用[J].中国医药科学, 2013,3(2):40.

\*副主任中药师,硕士。研究方向:中药制剂工艺与质量。电话:0518-85417572。E-mail:zhphenix@sina.com

#通信作者:教授,博士生导师。研究方向:中药品质评价。电话:025-85811153。E-mail:chenjw55@sina.com

[2] 吴伟,何梅凤,郭泽莉,等.白芍总苷对葡萄膜炎模型大鼠的保护作用[J].中国药房,2014,25(11):994.

[3] 李乔.连翘化学成分研究[J].辽宁中医药大学学报,2013,15(7):82.

[4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:附录34、97、159.

[5] 赵玥,王光函,吴怡,等.芩双片的薄层鉴别研究[J].时珍国医国药,2014,25(6):1394.

[6] 董宪凤.HPLC法测定清瘟解毒片中葛根素的含量[J].天津药学,2012,24(4):13.

(收稿日期:2015-02-04 修回日期:2015-08-17)

(编辑:张静)