

御感速袋泡剂质量标准的研究

李光慧 朱 青 李 虹 龚 韬 严文利 侯晓明 张建琨
(北京临床药学研究所 100035)

摘要 御感速袋泡剂按新药审评标准进行了质量标准的研究。鉴别项下除建立了显微方法外还建立了柴胡皂甙 a,d,连翘甙,葛根素,青蒿的薄层鉴别方法。用 HPLC 对黄芩甙和葛根素进行了含量测定。

关键词 御感速袋泡剂, HPLC, 葛根素, 黄芩甙

Study on Quality Standard of Yugansu Pill

Li Guanghui, Zhu Qing, Li Hong, Gong Tao,

Yan Wengli, Hou Xiaoming, Zhang Jiankun

(Beijing Institute for Clinical Pharmacy Research, Beijing, 100035)

Abstract: Yugansu Pill was made of several herbs. The quality standard was studied according to requirement by "Evaluation of New Drugs". In addition to the microscopy method, a qualitative identifying method by TLC was established for saikosapoin A and D, forsythin, puerarin and Herba Artemisiae Annuae. And also, baicalin and puerarin were quantitatively determined by HPLC.

Key words: Yugansu pill, HPLC, Puerarin, Baicalin

御感速是由生石膏、北柴胡、连翘、黄芩、葛根、青蒿、拳参、荆芥穗、板蓝根、薄荷十味中药组成的中药复方制剂。具有解肌发表、清热解毒的功能。适用于外感风寒证。为了保证制剂的质量,结合该药的特点,我们进行了质量标准的研究。

1 仪器与试药

岛津 LC-4A 高效液相色谱仪, CR-6A 数据处理机。SPD-2A 紫外检测器。

御感速制剂由本所自制。甲醇为优级纯。其他试剂均为分析纯。对照品均由中国药品生物制品检定所购入。

2 实验内容

2.1 薄层鉴别

2.1.1 柴胡皂甙 a,d 取本品 12g,加无水乙醇 50ml,冷浸 24h,过滤,滤液回收至干,加乙醇 0.5ml 溶解,作为供试品溶解。另取柴胡皂甙 a,d 加甲醇制成 0.5mg/ml 的溶液,作为对照品溶液。再取柴胡粗粉 0.5g,加甲醇 20ml,置 80℃水浴上回流 1h,放冷,过滤,滤液回收至干,加乙醇 2ml 溶解,作为对照药材溶液。吸取上述三种溶液各 3~5μl,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-甲醇-水(30:10:1)为展开剂,喷以 1%对二甲氨基苯甲醛硫酸乙醇(1→10)溶液,于 60℃烘烤,供试品色谱中,在与对照药材及对照品色谱相应的位置上显相同颜色的斑点。如图 1。

2.1.2 连翘甙 取柴胡皂甙项下供试品溶液为供试品溶液。另取连翘粗粉 1g, 加无水乙醇 5ml 冷浸 24h, 过滤, 为对照药材溶液。再取连翘甙对照品, 加乙醇制成 1mg/ml 的溶液, 为对照品溶液。吸取上述 3 种溶液各 2~5 μ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-甲醇(5:1)为展开剂, 喷以醋酐-浓硫酸(20:1)溶液, 在 105℃ 烘烤 10min, 供试品色谱中, 在与对照药材及对照品色谱相应的位置上显相同颜色的斑点^[1]如图 2。

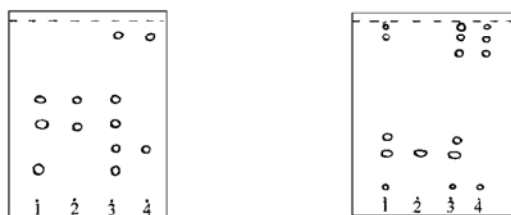


图 1 柴胡皂甙色谱图

图 2 连翘薄层色谱图

1 对照药材 2 柴胡皂甙 a, d

1 对照药材 2 连翘甙

3 供试品 4 空白

3 供试品 4 空白

2.1.3 葛根素 取本品 12g, 加乙醚 50ml, 回流 1h 过滤, 残渣挥除乙醚, 加乙醇 50ml, 回流 1h, 过滤, 滤液回收至干, 残渣加乙醇 0.5ml 溶解, 为供试品溶液, 另取葛根粗粉 2g, 加甲醇 10ml, 放置 2h, 过滤, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 0.5ml 溶解, 为对照药材溶液。再取葛根素对照品, 加甲醇制成 1mg/ml 溶液, 为对照品溶液。吸取上述 3 种溶液各 5~10 μ l, 照中国药典 95 版一部 296 页葛根鉴别项下操作。结果见图 3。

2.1.4 青蒿 取葛根素项下供试品溶液作为供试品溶液。另取青蒿 1g, 加乙醇 20ml, 回流 1h, 过滤, 滤液蒸干, 残渣加乙醇 0.5ml 溶解, 为对照药材溶液。吸取上述 2 种溶液各 2~5 μ l, 分别点于同一硅胶 G 板上, 以氯仿-甲醇(9:1)为展开剂, 紫外光灯(365nm)下检视。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应位置上显相同颜色荧光斑点^[1]。如图 4。

2.2 含量测定 黄芩甙 文献已报导的黄芩甙定量方法有薄层-紫外分光光度法^[2,3],

薄层光密度法^[4,5], 二阶导数光谱法^[6], 高效液相色谱法等^[7~9], 本文选用高效液相色谱法对黄芩甙含量进行测定; 葛根素文献已报导的含量测定方法有反相高效液相色谱法^[10,11], 薄层扫描法^[12]等, 本文选用高效液相色谱法进行含量测定。

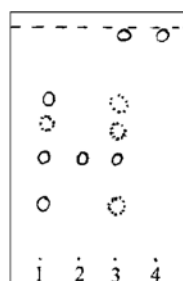


图 3 葛根薄层色谱图

1 对照药材 2 葛根素

3 供试品 3 空白

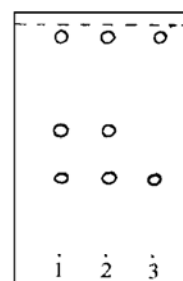


图 4 青蒿薄层色谱图

1 对照药材 2 供试品 3

空白

2.2.1 色谱条件 ①黄芩甙 色谱柱: KY-WG-C18 250mm $\times$ 4.6mm; 流动相: 0.5% 磷酸水溶液-甲醇-N,N-二甲基酰胺(13:10:1); 检测波长: 276nm; 柱温: 室温; 流量: 0.8ml/min。此条件下黄芩甙与其它组分均能达到基线分离。如图 5。②葛根素 色谱柱: KYWG-C18 250mm $\times$ 4.6mm, 流动相: 水-甲醇-N,N-二甲基酰胺(40:10:3); 检测波长: 250nm。柱温: 室温; 流速 0.8ml/min。在此条件下葛根素与其它相关峰均能达到基线分离。见图 6。

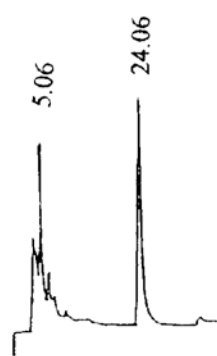


图 5 样品中黄芩甙的 HPLC 图谱



图 6 样品中葛根素的 HPLC 图谱

2.2.2 对照品纯度 按归一化法计算, 黄芩甙对照品纯度为 93.64%。如图 7; 葛根素对

照品纯度为 100%。如图 8。



图 7 黄芩甙对照品纯度图



图 8 葛根素对照品纯度图

2.2.3 供试品溶液的制备与测定 精密称取本品约 0.35g, 置磨口三角瓶中, 加 50% 甲醇 100ml, 称重, 水浴加热回流 30min, 放冷, 称重, 加 50% 甲醇补足失去溶媒量, 取上清液离心 10min (10000 转/分), 为供试品溶液 A (测定黄芩甙); 精密称取本品约 3g, 置磨口三角瓶中加 50% 甲醇 100ml, 称重, 水浴加热回流 1.5h, 放冷, 称重, 加 50% 甲醇补足失去溶媒量, 取上清液离心 10min (10000 转/分), 作为供试品溶液 B (测定葛根素)。分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液 10 μ l, 注入高效液相色谱仪, 测定峰面积, 以外标法计算, 即得。

本品含黄芩甙 ($C_{21}H_{18}O_{11}$) 量不应低于 8.5mg/g; 本品含葛根素 ($C_{21}H_{18}O_{11}$) 不得少于 3.0mg/g。

2.2.4 线性关系考察 精密称取黄芩甙对照品约 5mg, 量 50ml 量瓶中, 加 50% 甲醇溶解并稀释至刻度, 作为对照品溶液。用 500 μ l 的注射器将对照品溶液分别用 50% 甲醇稀释, 配制成浓度分别为 0.1, 0.05, 0.025, 0.02, 0.01mg/ml 的溶液; 精密称取葛根素对照品 5mg 于 25ml 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 作为对照品溶液。用 500 μ l 的注射器将上述对照品溶液分别用甲醇稀释, 配成浓度为 0.2, 0.1, 0.075, 0.05, 0.025mg/ml

的溶液。用 10 μ l 微量注射器进样, 按黄芩甙及葛根素色谱条件测定峰面积, 以浓度为纵坐标, 峰面积为横坐标, 绘制标准曲线, 计算得回归方程。黄芩甙 $Y = 1.781 \times 10^{-3} + 9.953 \times 10^{-8}x$ $r = 0.9996$ 在 0.1~1.0 μ g 范围内具有良好的线性。葛根素 $Y = -1.55 \times 10^{-4} + 1.088 \times 10^{-7}x$ $r = 0.9999$ 在 0.25~2.0 μ g 范围内具有良好的线性。

2.2.5 精密度试验 分别精密吸取供试品 A 及 B 溶液, 重复进样, 黄芩甙峰面积积分值的相对标准偏差 $RSD = 1.07\%$, $n = 5$; 葛根素 $RSD = 1.62\%$, $n = 6$ 。

2.2.6 重现性试验 对同一批样品照正文方法测定黄芩甙 5 份, $\bar{x} = 12.16\text{mg/g}$ $RSD = 1.35\%$; 测定葛根素 6 份, $\bar{x} = 3.3\text{mg/g}$ $RSD = 1.91\%$ 。

2.2.7 回收率试验 采用加样回收法, 取已知含量的御感速袋泡茶, 分别添加黄芩甙及葛根素对照品, 按各自的色谱条件测定, 结果列于表 1, 2。结果表明黄芩甙及葛根素均有良好的回收率, 方法可行。

表 1 黄芩甙回收率测定

样品含量(mg)	添加量(mg)	测得总量(mg)	回收率(%)
2.1948	2.15	4.3383	99.70
2.1888	2.15	4.3888	102.33
2.1780	2.15	4.4240	104.47
2.1780	2.15	4.4078	103.71
2.1840	2.15	4.4177	103.90
$\bar{x} 102.82\% \quad RSD 1.86\%$			

表 2 葛根素回收率测定结果

样品含量(mg)	添加量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)
3.2997	3.29	6.6879	102.99
3.3003	3.29	6.6425	101.59
3.3036	3.29	6.6425	101.49
3.2996	3.29	6.7012	103.39
3.3046	3.29	6.5676	99.18
$\bar{x} 101.73\% \quad RSD 1.62\%$			

2.2.8 空白实验 按处方量分别自制空白品, 按样品测定操作, 经测定空白不存在干扰, 如图 9, 10。

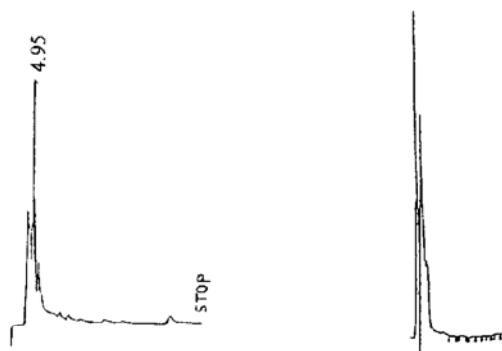


图9 黄芩空白的
HPLC 图谱

10 葛根空白的
HPLC 图谱

2.2.9 三批样品测定结果 分别精密吸取对照品溶液与供试品 A, B 溶液各 $10\mu\text{l}$, 按各自色谱条件测定, 结果列于表 3。

表3 三批样品含量测定(mg/g)

批号	黄芩甙含量 ($n=3$)	RSD(%)	葛根素含量 ($n=2$)	RSD(%)
950214	10.14	1.07	3.40	0.29
950216	9.95	0.54	3.30	0.15
950219	9.74	0.96	3.30	0.76

参考文献

- 1 王宝葵. 中成药质量标准与标准物质研究. 北京:中国医药科技出版社,1994. 121,367
- 2 任世禾,张晓峰,黄松章. 中成药,1989,11(4):5
- 3 余世春,刘信顺,尹双青,等. 中草药,1992,23(5):239
- 4 于留荣,刘美兰,章育中. 药物分析杂志,1983,3(1):18
- 5 李学斌,秦伟华. 中成药,1992,14(8):16
- 6 石淑琴,郭君,阚双青,等. 中成药,1992,14(5):10
- 7 陆定一,周原,谢文. 中成药,1992,14(6):11
- 8 林似兰,赵陆,华智南. 中国药科大学学报,1989,20(3):136
- 9 袁俊肾,邵依因,仵培坚. 中成药,1993,15(1):21
- 10 章育中,杨凡. 药物分析杂志,1984,4(2):67
- 11 张伟,栗晓黎,田金改. 药物分析杂志,1994,4(4):43
- 12 梁文法,闭业范,简毓琴,等. 中成药,1991,13(12):33

(收稿:1996-10-29)