

泽兰合剂质量标准研究

易生富 张 静 许汉香 李万江¹ (荆州 434001 荆州市中医院; ¹ 荆州市药检所)

摘要 目的: 建立泽兰合剂质量控制方法。方法: 采用 TLC 对金银花、红花进行定性鉴别, HPLC 测定绿原酸的含量。结果: TLC 鉴别方法专属性强。含量测定绿原酸在 0.2~1.0 μ g 间有良好的线性关系, 回收率为 98.67%, RSD 为 2.19%。结论: 本法简便, 准确, 重现性好, 可作为该制剂的质量控制方法。

Studies on the quality standard of zelan heji

Yi Shengfu (Yi SF), Zhang jing (Zhang J), Xu Hanxiang (XU HX), Li Wanjiang (Li WJ) (Hospital of Traditional Chinese Medecins of Jingzhou City, Hubei Jingzhou 434001)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To establish quality control method for zelan heji. **METHODS:** Thin layer chromatography was used for simultaneous identification of flos Lanicerae and concentrated. The linearity for chlorogenic acid was obtained over the range of 0.2~1.0 μ g, and the average recovery of chlorogenic acid was 98.67% with RSD2.19%. **CONCLUSION:** The method is simple, accurate and reproducible, It can be used for the quantitative determination of the zelan heji.

KEY WORDS zelan heji, chlorogenic acid, HPLC

泽兰合剂由泽兰、金银花、丹参、红花、川牛膝组成,具活血化瘀、消肿止痛之功效,用于筋骨损伤、初期红肿疼痛等症。经我院三十多年临床验证,疗效确切。经多次实验,建立了该制剂中金银花、红花的薄层色谱检验方法,并以绿原酸为指标成份进行了HPLC法含量测定。

1 仪器与材料

SP8810 高效液相色谱仪, SP8450 紫外检测器(美国); PBQ-1 型薄层铺板仪(重庆); 薄层层析用硅胶 H, 羧甲基纤维素钠(青岛海洋化工厂); 泽兰合剂(自制); 绿原酸对照品, 红花对照药材(中国药品生物制品检定所); 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 处方与制备

2.1.1 处方 金银花 30kg, 泽兰 30kg, 红花 12kg, 丹参 2kg, 川牛膝 15kg, 山梨酸钾 150g, 柠檬酸适量, 共制 100,000ml。

2.1.2 制备 以上五味,加水浸渍 1h,煎煮 2 次,每次 2h,合并煎液,滤过,将滤液浓缩,制成相对密度为 1.08 的浓缩液,降温后加入山梨酸钾,用柠檬酸调节 pH 值 4.0~5.5 之间,加纯化水至总量,搅匀,静置 24h,过滤,分装入 100ml 瓶内,封口,以 115℃ 热压灭菌 30min 即成。

2.2 薄层色谱鉴别

2.2.1 金银花 取本品 10ml,用醋酸乙酯萃取 3 次,每次 5ml,合并萃取液,挥去醋酸乙酯,残渣加甲醇 5ml 使溶解,作为供试品溶液。另称取绿原酸对照品适量,加甲醇溶解,制成 1mg·ml⁻¹ 的溶液,作为对照品溶液。再按处方取不含金银花的其它药材,按本品制备工艺和上述供试品制备方法制成阴性对照液。吸取上述 3 种溶液各 8 μ l,分别点于同一含 CMC-Na 硅胶 H 薄层板上,以醋酸丁酯-甲酸-水(7:2.5:2.5)上层溶液为展开剂^[1],展距 14cm,取出,晾干,置紫外灯(365nm)下检视。在 Rf0.5 处,供试品色谱与对照品色谱显一相同亮蓝色荧光斑点,阴性对照品无此斑点(见图 1)。

2.2.2 红花 取本品 10ml,用石油醚萃取 3 次,每次 5ml,弃去石油醚层,再用正丁醇萃取 3 次,每次 5ml,挥去正丁醇,残渣用 80% 丙酮溶解定容至 5ml,作为供试品溶液,另取原

方缺红花的泽兰合剂 10ml 同法制备阴性对照液。再取红花对照药材 1g,加 80% 丙酮 10ml,密塞,振摇 15 分钟,静置,吸取上清液作为对照药材溶液。吸取上述 3 种溶液各 5 μ l,分别点于同一含 CMC-Na 硅胶 H 薄层板上,以醋酸丁酯-甲酸-水-甲醇(7:2:3:0.4)为展开剂^[2],展距 13cm,取出,晾干,置 365nm 紫外光灯下观察,在 Rf0.4 处,供试品与对照品显相同桔黄色斑点。结果见图 2。

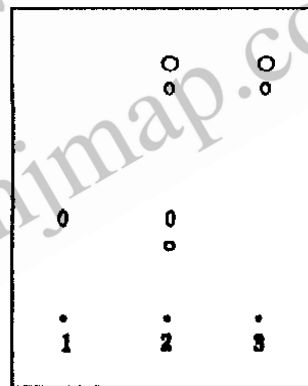


图 1 金银花的 TLC 图谱

1- 绿原酸对照品; 2- 供试品; 3- 阴性对照品

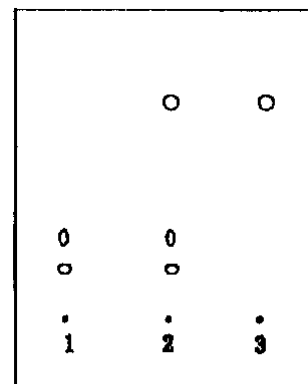


图 2 红花的 TLC 图谱

1- 红花对照药材; 2- 供试品; 3- 阴性对照品

2.3 绿原酸含量测定

2.3.1 色谱条件: 色谱柱为 U-Bondapak C18 (200mm × 4mm, 10 μ m) 柱, 柱温 25℃, 流动相为甲醇-水-冰醋酸(28:

72: 0.5)^[3],流速为1.0m l• m in⁻¹,检测波长为328nm。对照品与供试品色谱见图3。

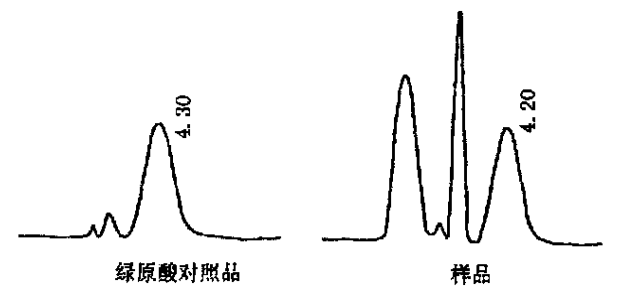


图3 对照品与样品 HPLC 图谱

2.3.2 样品溶液的制备:精密量取本品20ml,用乙醚萃取5次,每次10ml,弃去乙醚液,再用醋酸乙酯提取5次,每次10ml,挥去醋酸乙酯,残渣加60%乙醇5ml溶解转于25ml量瓶,再用60%乙醇10ml分次洗涤,并于同一25ml量瓶中,静置,用0.45μm微孔滤膜过滤,即得。

2.3.3 对照品溶液的制备:精密称取85℃干燥至恒重的绿原酸对照品5mg,以60%乙醇制成浓度为0.5mg• ml⁻¹的对照品溶液。

2.3.4 分离可行性考察 取除金银花外的4味药材按处方组成的剂量,按“2.1.2”项下方法制备。然后按“2.3.2”项下方法制得空白对照溶液。取样品溶液,对照品溶液及空白对照溶液各10μl分别进样,绿原酸峰的保留时间为4.30min,分离度为1.55,其空白色谱在绿原酸出峰区域没有干扰峰出现。

2.3.5 标准曲线的制备 精密吸取对照品溶液1.00,2.00,3.00,4.00,5.00ml分别置于10ml量瓶中,用60%乙醇稀释并定容,各进样10μl,以峰面积Y为纵坐标,绿原酸量X为横坐标,得到一近似通过原点的直线,回归方程为Y=1809.5X-196.5,r=0.9998,线性范围为0.2~1.0μg。

2.3.6 精密度试验 取上述样品溶液,重复测定5次,峰面积基本不变,RSD为1.87%(见表1)。

表1 精密度试验

进样量(μl)	峰面积	RSD(%)
10	16161	1.87
10	16306	
10	16161	
10	15582	
10	15872	

2.3.7 稳定性试验,取上述样品溶液,每间隔1h测定一次,连续测定9次。(见表2)。

2.3.8 重现性试验,取同一批号样品5份,分别依本法处理进行测定,结果见表3。

2.3.9 回收率试验,精密吸取已知含量的样品5份,分别添加一定量的绿原酸对照品,按“样品溶液的制备”项下操作、测定,结果见表4。

2.3.10 样品含量测定 取3批样品,按“样品溶液的制备”

项下操作,各依法测定5次,结果见表5。

表2 稳定性试验

时间(h)	进样量(μl)	峰面积	RSD(%)
1.0	10	18761	1.55
2.0	10	18324	
3.0	10	17960	
4.0	10	18512	
5.0	10	18133	
6.0	10	17890	
7.0	10	17969	
8.0	10	18213	
9.0	10	18176	

表3 重现性试验

编号	含量(mg)	平均含量(mg)	RSD(%)
1	1.31	1.27	2.34
2	1.28		
3	1.28		
4	1.24		
5	1.24		

表4 回收率试验

序号	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	0.0605	0.4000	0.4564	98.97	98.67	2.19
2	0.0595	0.4000	0.4490	97.38		
3	0.0621	0.4000	0.4619	99.96		
4	0.0618	0.4000	0.4670	101.29		
5	0.0607	0.4000	0.4437	95.75		

表5 样品含量测定

样品批号	含量(mg)	平均含量(mg)	RSD(%)
990412	1.24	1.21	2.29
	1.20		
	1.21		
	1.17		
	1.23		
990507	1.21	1.18	2.24
	1.14		
	1.19		
	1.17		
	1.19		
990923	1.21	1.19	2.31
	1.22		
	1.18		
	1.05		

3 临床疗效

临床观察 187 例骨折早期病人, 治疗组 103 例, 对照组 84 例。治疗组口服泽兰合剂, 每次 30ml, tid; 对照组口服三七总甙片, 每次 4 片, tid, 15day 一疗程。治疗组有效率为 99.0%, 对照组有效率为 92.8%, 两组间有显著性差异($P < 0.05$)。

4 讨 论

4.1 在金银花的薄层鉴别试验中, 展开剂静置时间不能少于 10min, 尽管绿原酸斑点下方紧挨着一个斑点, 但因其颜色不同, 并不影响该鉴别方法的准确性, 其最小检测量为 5 μ g。在红花的薄层鉴别试验中, 展开剂曾用醋酸丁酯-甲酸-甲醇(7: 2: 4), 斑点较多, 鉴别特征不明显。曾试用丹参素为对照品, 对方中丹参进行薄层鉴别, 因样品中丹参素含量较低, 不易与儿茶醛等水溶性成分分离, 检不出斑点, 处方中丹参的鉴别有待进一步研究。

4.2 金银花为方中主药, 绿原酸为金银花的主要活性成分, 故选择绿原酸作为控制本品质量的指标成分。

4.3 本品为中药复方制剂, 成分较多, 用乙醚萃取 5 次, 醋

酸乙酯提取 6 次, 既可达到绿原酸与其他成分较好分离, 又可保证绿原酸的提取完全。

4.4 在实验过程中曾采用冰醋酸-甲醇为流动相, 甲醇为溶剂, 其液相分离效果不理想, 拖尾现象也比较明显。尽管本标准中以乙醇为溶剂存在乙醇峰, 但此峰并不影响绿原酸峰, 以 60% 乙醇作溶剂, 其液相分离效果最好。

4.5 为了保证泽兰合剂的质量, 对不同产地金银花药材中绿原酸的含量进行测定, 结果表明不同产地的金银花绿原酸含量有较大差别, 其中河南产金银花绿原酸含量最高, 故规定本方中所用金银花应为河南产“密银花”。

参考文献

- 1 中国药典[S]. 一部. 2000. 177.
- 2 中国药典[S]. 一部. 2000. 119.
- 3 刘 启等. 高效液相色谱法测定消炎冲剂中绿原酸含量[J]. 中国医院药学杂志, 1995, 15(7): 309.

收稿日期: 2000- 11- 08