

柴白安神合剂的质量控制研究

程竹¹, 李凌云², 范红梅², 刘志海², 胡秋燕³ (1. 贵阳医学院附属医院, 贵阳 550004; 2. 黔西南州药品检验所, 贵州 兴义 562400; 3. 黔西南州医院, 贵州 兴义 562400)

摘要: 目的 建立柴白安神合剂的质量标准, 有效控制柴白安神合剂的质量。方法 采用薄层色谱法(TLC)对柴胡、百合、白芍、五味子、川芎进行定性鉴别, 高效液相色谱法(HPLC)对黄芩苷进行含量测定。结果 TLC 可定性鉴别柴胡、百合、白芍、五味子、川芎 5 味药材, 且 Rf 值合理, 重复性好; HPLC 中黄芩苷在 0.103 2~1.032 μg 内线性关系良好($r=0.999\ 8$), 平均回收率为 99.5%, RSD 为 1.4%($n=6$)。结论 该质量控制方法准确, 简单、专属性强, 可有效控制柴白安神合剂的质量。

关键词: 柴白安神合剂; 质量标准; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 黄芩苷

中图分类号: R927.11

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2010)03-0251-05

Study on Quality Control of Chaibaiansheng Mixture

CHENG Zhu¹, LI Lingyun², FAN Hongmei², LIU Zhihai², HU Qiuyan³ (1. Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, China; 2. Institute for Drug Control of Qianxinanzhou, Xingyi 562400, China; 3. Hospital of Qianxinanzhou, Xingyi 562400, China)

作者简介: 程竹, 女, 主管药师

Tel: (0851)6813819

E-mail: chengzhu_3118@sina.com

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the quality standards for quality control of Chaibaisheng mixture. **METHODS** TLC was adopted to identify Radix Bupleurum, Bulbus Lily, Radix Paeoniae Alba, Fructus Schisandrae Chinensis and Rhizoma Chuanxiong, and a HPLC method was used to test the content of Baicalin. **RESULTS** TLC can identify these extraction: Radix Bupleuri, Bulbus Lili, Radix Paeoniae Alba, Fructus Schisandrae Chinensis and Rhizoma Chuanxiong, and the R_f is reasonable and repeatable; Baicalin has good linearity relationship by HPLC in 0.103 2-1.032 μg($r=0.999\ 8$), the average recovery is 99.7%, RSD is 1.5%($n=6$). **CONCLUSION** This method of qualitative control is precise, easy and exclusive, and has good effect on quality control of Chaibaisheng mixture.

KEY WORDS: Chaibaisheng mixture; quality control; TLC; HPLC; Baicalin

柴白安神合剂是由柴胡、黄芩、百合、白芍、酸枣仁、五味子、知母、川芎、茯苓、党参、大枣、甘草等 15 味中药加工而成的纯中药液体制剂，是医院治疗神经衰弱的一剂良方，该合剂以治疗失眠多梦、神疲乏力，头晕头痛、记忆力差、心情烦躁为主症，临床应用多年，疗效显著。为保证和控制该制剂的质量，本试验建立了对其中的主要成分柴胡、百合、白芍、五味子、川芎的 TLC 定性鉴别，其余药材 TLC 定性在研究中因其干扰较大，暂不列入；黄芩因在处方中为主要药味，用量较大，根据实验室现有条件，宜选择简单、准确、可控的方法进行含量测定，故采用 HPLC 测定柴白安神合剂中黄芩苷的含量。HPLC 建立的方法简单可靠，重复性好，有助于对柴白安神合剂进行质量控制。

1 材料

岛津 LC-20AD 高效液相色谱仪(日本岛津)及其色谱工作站；对照品、对照药材均购于中国药品生物制品检定所，黄芩苷对照品(批号：110745-200415，含量 95.2%)，柴胡对照药材(批号：120992-200705)、百合对照药材(批号：121100-200402)、白芍对照药材(批号：120905-200508)、五味子对照药材(批号：120922-200606)、川芎对照药材(批号：120918-200809)；甲醇为色谱纯，水为重蒸馏水，其余试剂、试药为分析纯，柴胡安神合剂为自制(规格：100 mL·瓶⁻¹，批号：20080925，20080926，20081008)。

2 薄层鉴别^[1]

2.1 柴胡 TLC 鉴别

取本品 5 mL，加甲醇 15 mL，振摇 5 min，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇 1 mL 使溶解，作为供试品溶液。另取柴胡对照药材 0.5 g，加甲醇 15 mL，超声处理 10 min，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇 1 mL 使溶解，制成对照药材溶液。吸取上述溶液各 5 μL，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以乙酸乙酯-乙醇-水(8：2：1)为展开剂，展开，取出，晾

干，喷以 2%对二甲氨基苯甲醛的 40%硫酸溶液，在 60℃加热至斑点显色清晰，置日光及紫外光灯(365 nm)下检视。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，见图 1。

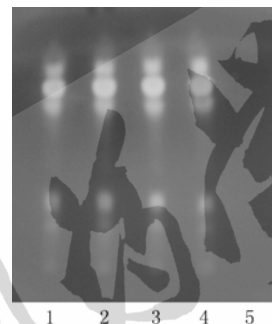


图 1 柴胡薄层图谱

1-柴白安神合剂(批号 20080925); 2-柴白安神合剂(批号 20080926); 3-柴白安神合剂(批号 20081008); 4-柴胡对照药材; 5-阴性对照

Fig 1 TLC chromatogram of Radix Bupleuri

1-Chaibaisheng mixture (20080925); 2-Chaibaisheng mixture (20080926); 3-Chaibaisheng mixture (20081008); 4-Radix Bupleurum reference; 5-negative sample

2.2 百合 TLC 鉴别

取本品 5 mL，加甲醇 15 mL，振摇 5 min，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇 1 mL 使溶解，作为供试品溶液。另取百合对照药材 1 g，加甲醇 10 mL，超声处理 20 min，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇 1 mL 使溶解，制成对照药材溶液。吸取上述溶液各 10 μL，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以石油醚(60~90℃)-乙酸乙酯-甲酸(15：5：1)的上层溶液为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 10%磷钼酸乙醇溶液，加热至斑点显色清晰。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，见图 2。

2.3 白芍 TLC 鉴别

取本品 5 mL，加无水乙醇 15 mL，振摇 5 min，滤过，滤液蒸干，残渣加乙醇 0.5 mL 使溶解，作为供试品溶液。另取白芍对照药材 0.5 g，加乙醇 10 mL，超声处理 20 min，放冷，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇 0.5 mL 制成作为对照药材溶液。吸取上述溶液 5 μL，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，

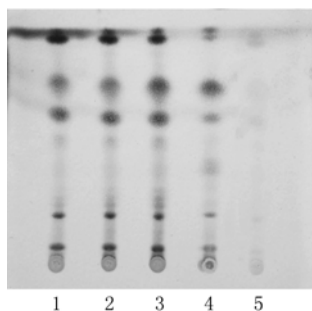


图2 百合薄层图谱

1-柴白安神合剂(批号 20080925); 2-柴白安神合剂(批号 20080926); 3-柴白安神合剂(批号 20081008); 4-百合对照药材; 5-阴性对照

Fig 2 TLC chromatogram of Bulbus Lili

1-Chaibaianheng mixture (20080925); 2-Chaibaianheng mixture (20080926); 3-Chaibaianheng mixture (20081008); 4-Bulbus Lily reference; 5-negative sample

以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(40:5:10:0.2)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。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, 见图 3。

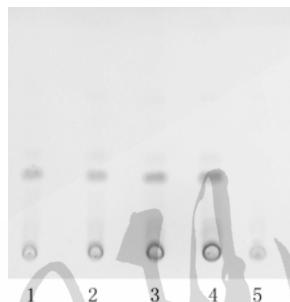


图3 白芍薄层图谱

1-柴白安神合剂(批号 20080925); 2-柴白安神合剂(批号 20080926); 3-柴白安神合剂(批号 20081008); 4-白芍对照药材; 5-阴性对照

Fig 3 TLC chromatogram of Radix Paeoniae Alba

1-Chaibaianheng mixture (20080925); 2-Chaibaianheng mixture (20080926); 3-Chaibaianheng mixture (20081008); 4-Radix Paeoniae Alba reference; 5-negative sample

2.4 五味子 TLC 鉴别

取本品 5 mL, 加三氯甲烷 20 mL, 加热回流 30 min, 放冷, 分取三氯甲烷层液, 蒸干, 残渣加三氯甲烷 0.5 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取五味子对照药材 0.5 g, 同法制备对照药材溶液。吸取上述溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上, 以石油醚(30~60 $^{\circ}$ C)-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1)的上层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(254 nm)下检视。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, 见图 4。

2.5 川芎 TLC 鉴别

取本品 5 mL, 用乙醚分 2 次提取, 每次 10 mL,

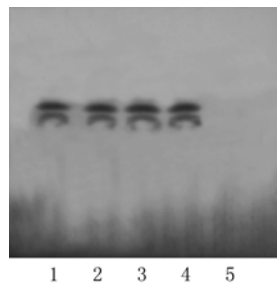


图4 五味子 TLC 图谱

1-柴白安神合剂(批号 20080925); 2-柴白安神合剂(批号 20080926); 3-柴白安神合剂(批号 20081008); 4-五味子对照药材; 5-阴性对照

Fig 4 TLC chromatogram of Fructus Schisandrae Chinensis

1-Chaibaianheng mixture (20080925); 2-Chaibaianheng mixture (20080926); 3-Chaibaianheng mixture (20081008); 4-Fructus Schisandrae Chinensis reference; 5-negative sample

合并乙醚层, 挥干, 残渣加乙酸乙酯 0.5 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取川芎对照药材 0.5 g, 加乙醚 20 mL, 加热回流 1 h, 放冷, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加乙酸乙酯 0.5 mL 使溶解, 作为对照药材溶液。吸取上述溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正丁烷-乙酸乙酯(9:1)的上层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点, 见图 5。

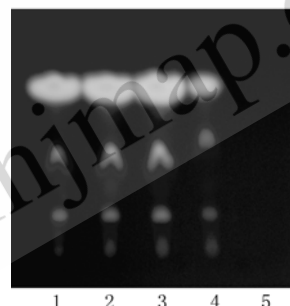


图5 川芎 TLC 图谱

1-柴白安神合剂(批号 20080925); 2-柴白安神合剂(批号 20080926); 3-柴白安神合剂(批号 20081008); 4-川芎对照药材; 5-阴性对照

Fig 5 TLC chromatogram of Rhizoma Chuanxiong

1-Chaibaianheng mixture (20080925); 2-Chaibaianheng mixture (20080926); 3-Chaibaianheng mixture (20081008); 4-Rhizoma Chuanxiong reference; 5-negative sample

3 黄芩苷含量测定

3.1 色谱条件

色谱柱: Symmetry C₁₈(4.6 mm $\times$ 150 mm, 5 μ m), 流动相: 甲醇-0.4%磷酸溶液(47:53), 检测波长: 278 nm, 流速: 1.0 mL $\cdot$ min⁻¹, 柱温: 常温, 理论板数按黄芩苷峰计算不低于 3 000, 进样量: 10 μ L。

3.2 溶液的制备

3.2.1 对照品溶液 精密称取 60 $^{\circ}$ C 减压干燥 6 h 的黄芩苷对照品 10.32 mg, 置 100 mL 棕色量瓶中,

加甲醇 30 mL 溶解, 超声使溶解, 放冷, 加甲醇至刻度, 摇匀, 得浓度为 $103.2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液。

3.2.2 供试品溶液 取本品 5 mL, 置入 50 mL 量瓶中, 加入甲醇定容至 50 mL, 摇匀, 滤过, 续滤液再用滤膜($0.45 \mu\text{m}$)滤过即得。

3.2.3 阴性样品溶液 制备不含黄芩药材的柴白安神合剂, 精密量取 5 mL, 按“3.2.2”项下方法操作, 即得。

3.3 检测波长的确定

取黄芩苷对照品适量, 加甲醇溶解制备对照

品溶液。以甲醇为空白, 在波长 200~400 nm 范围内进行紫外扫描, 得到 UV 光谱图, 图中可见 278 nm 处有最大吸收。故选择 278 nm 作为黄芩苷测定的紫外检测波长。

3.4 专属性考察

精密吸取阴性样品溶液、对照品溶液、供试品溶液各 10 μL , 注入 HPLC, 按“3.1”条件进行测定, 可见黄芩苷在 9 min 左右出现色谱峰, 阴性样品溶液中无黄芩苷色谱峰, 方法专属性良好。结果见图 6。

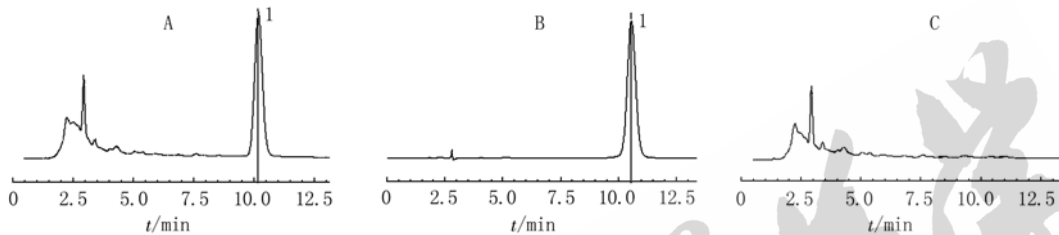


图 6 高效液相色谱图
A-样品; B-对照品; C-阴性对照; 1-黄芩苷

Fig 6 HPLC chromatograms
A-sample; B-standard; C-blank; 1-Baicalin

3.5 线性考察

精密量取“3.2.1”项下对照品溶液 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇至刻度, 摇匀, 即得质量浓度为 10.32, 20.64, 41.28, 61.92, 82.56, $103.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 系列浓度待测对照品溶液。分别吸取不同浓度的对照品溶液各 10 μL , 注入高效液相色谱仪, 以测得的峰面积值为纵坐标(Y)、黄芩苷的进样量为横坐标(X)绘制标准曲线, 得回归方程为: $Y=57.339 2X+33.39$, $r=0.999 8$, 结果表明黄芩苷在 0.103 2~1.032 μg 内与峰面积有良好的线性关系。

3.6 精密度试验

取“3.5”项下低、中、高(即 10.32, 61.92, $103.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)3 种浓度对照品溶液, 日内试验各浓度在 1 d 内分别进样 5 次, 每次 10 μL , 测定; 日间试验各浓度每天进样 1 次, 连续测定 5 d。结果日内 RSD 为 0.5%, 日间 RSD 为 1.2%, 表明精密度良好。

3.7 重复性考察

精密量取同一批号样品(批号 20081008)5 份, 按“3.2.2”项下方法操作制成 5 份供试品溶液, 精密量取 10 μL 注入高效液相色谱仪, 检测黄芩苷的峰面积 RSD 为 0.8%, 表明方法的重复性良好。

3.8 稳定性试验

精密量取同一批号样品(批号 20081008)1 份, 按“3.2.2”项下方法操作制成供试品溶液, 于 0, 6, 12, 24, 48 h 分别进样 10 μL 测定, 峰面积 RSD 为 1.1%, 表明供试品溶液在 48 h 内稳定。

3.9 回收率试验

精密量取已知含量的样品(批号: 20081008)6 份, 每份 2.5 mL, 分别加入一定量的对照品, 按“3.2.2”项下方法制成供试液, 吸取供试液 10 μL , 注入高效液相色谱仪, 检测, 结果见表 2, 平均回收率为 99.72%, RSD 为 1.5%。

表 2 加样回收率试验结果($n=6$)

Tab 2 Results of recovery tests($n=6$)						
序号	样品量/ mg	加入量/ mg	测出量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/%
1	4.608	6.435	11.052	100.08	99.5	1.4
2	4.608	6.435	11.003	99.63		
3	4.608	6.435	11.043	100.00		
4	4.608	6.435	10.992	99.53		
5	4.608	6.435	10.935	99.02		
6	4.608	6.435	10.903	98.73		

3.10 样品测定

取 3 个批次样品, 按“3.2.2”项下方法处理和“3.1”项下条件进行测定, 计算黄芩苷的含量, 结果测得 3 批柴白安神合剂的黄芩苷含量在 $1.843\sim 2.053 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 暂定本品黄芩苷的含量不低

于 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ (在平均值下浮约 20%), 见表 3。

表 3 样品测定结果($n=3$)

Tab 3 Contents determination results of samples($n=3$)

批号	黄芩苷含量/ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	RSD/%
20080925	2.053	1.3
20080926	1.785	0.8
20081008	1.843	1.5

4 讨论

选择黄芩苷作为含量测定指标的理由: ①柴白安神合剂中黄芩为在处方中用量较大, 相对柴胡为臣药, 对其进行含量测定控制简便、可行; ②黄芩苷的含量测定方法简单、条件易控制、有助于对医院制剂进行质量监控。

在色谱条件的选择中, 对不同流动相^[2-7]和 2005 版药典收载黄芩项下黄芩苷含量测定流动相以及不同的柱温条件进行了筛选, 以流动相为甲醇-0.4%磷酸溶液(47:53), 其黄芩苷峰型较好, 与杂峰的分离度都较为理想, 且此条件下杂质干扰较少; 柱温的变化对其影响不大, 故柱温选择常温。

柴白安神合剂主要成分柴胡、百合、白芍、五味子、川芎采用薄层色谱法进行定性鉴别, 色谱斑点明显, 专属性强, 可用于该制剂的定性鉴

别。除以上 5 种药味外, 笔者也试图对其他药味也进行过 TLC 鉴别, 但是因为方法专属性较差, 背景多有干扰。本试验通过方法学考察, 建立了柴白安神合剂的黄芩苷的含量测定方法, 其简单、专属性强, 可有效控制柴白安神合剂的质量。

REFERENCE

- [1] Ch.P (2005) Vol I (中国药典 2005 年版. 一部) [S]. 2005: Appendix VIB 31.
- [2] ZHANG X P, LI T R. Determination of baicaline in Fukang mixture by HPLC [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2008, 28(22): 1967-1968.
- [3] ZHOU G Y, ZHANG N F, GUO L. Quality control of Jiegu mixture [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2008, 28(19): 1710-1711.
- [4] WANG H J, JIANG Q H, XU Y H, et al. Improvement of quality standard in Nongbai mixture [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2008, 28(17): 1510-1511.
- [5] SU X G, ZHENG G P, CHAI J Z. Determination of baicaline in Xiao'er Qingrezhike oral solution by HPLC [J]. Her Med(医药导报), 2004, 23(12): 961-962.
- [6] SONG J L, LÜ F L, YUAN M F. Determination of baicaline in Shuanghuanxiayan tablets by HPLC [J]. Chin Pharm Aff (中国药事), 2005, 19(11): 677-678.
- [7] FAN D R, LIU X, GAO X Z, et al. Study on quality control of Maqin oral solution [J]. China Pharm(中国药师), 2005, 8(3): 209-210.

收稿日期: 2009-05-14