

# 芎菊上清丸质量标准研究

肖丽和,黄晓炜,熊英(深圳市药品检验所,广东 深圳 518029)

**摘要:**目的 建立芎菊上清丸(大蜜丸)质量控制方法。方法 采用薄层色谱法对制剂中的白芷、菊花、栀子、黄连进行定性鉴别;采用高效液相色谱法测定制剂中黄芩苷的含量。结果 薄层色谱显色清晰且阴性对照无干扰。黄芩苷在  $0.00496 \sim 0.248 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  内呈良好的线性关系,平均回收率为 96.6%,RSD = 1.1%。结论 本法操作简便,结果准确、重复性好,可用于芎菊上清丸(大蜜丸)的质量控制。

**关键词:**高效液相色谱法;黄芩苷;薄层色谱法;芎菊上清丸(大蜜丸)

中图分类号:R926 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2009)04-0322-05

---

作者简介:肖丽和,女,硕士,主管药师 Tel:(0755)25843464 E-mail:lihexiao@hotmail.com

# The Quality Standards Study of Xiongju Shangqing Pills

XIAO Lihe, HUANG Xiaowei, XIONG Ying (Shenzhen Institute for Drug Control, Shenzhen 518029, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To develop a method of quality control for Xiongju Shangqing pills. **METHODS** *Radix Angelicae Dahuricae*, *Flos Chrysanthemi*, *Fructus Gardeniae* and *Rhizoma Coptidis* were identified by TLC. HPLC was used for the determination of baicalin. **RESULTS** The chromatographic spots were identified without the interference of negative control. Baicalin had a good linearity over the concentration range of 0.004 96 - 0.248 mg · mL<sup>-1</sup>, the average recoveries was 96.6% with relatively standard deviations of 1.1%. **CONCLUSION** This method was found to be reliable, accurate and specific, it can be used for the quality control of Xiongju Shangqing pills.

**KEY WORDS:** HPLC; baicalin; TLC; Xiongju Shangqing pills

芎菊上清丸(大蜜丸)为川芎、菊花、黄芩等15味药材组成的成方制剂,具有清热、散风、止痛的功效,用于外感风热,头痛鼻塞。原标准收载于中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂第11册,仅收载菊花、黄芩的显微特征鉴别,为了提高中成药的检测标准,增加了白芷、菊花、栀子和黄连的薄层色谱鉴别及黄芩苷的HPLC含量测定。

## 1 仪器与材料

岛津LC-20AD高效液相色谱仪,SPD-M20A检测器,LC-Solution色谱工作站;AS20500A超声波清洗仪(天津奥特恩斯)。异欧前胡素对照品(批号:110827-200206)、栀子苷对照品(批号:0749-9806)、盐酸小檗碱对照品(批号:713-200208)、黄芩苷对照品(批号:110715-200212)及菊花对照药材(批号:121384-200401)、黄连对照药材(批号:913-9905)(中国药品生物制品检定所);芎菊上清丸由内蒙古亿利科技实业股份有限公司药业分公司和黑龙江葵花药业股份有限公司提供;处方中的15味中药由内蒙古亿利科技实业股份有限公司药业分公司提供,经深圳市药品检验所中药室熊英主任中药师鉴定为正品。水为超纯水,甲醇为色谱纯,实验中所用的其它试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 薄层色谱鉴别

**2.1.1 白芷** 取本品9g,剪碎,加硅藻土6g,研匀,加乙醚50mL,于30℃以下超声处理30min,滤过,药渣挥干乙醚备用;滤液挥干乙醚,残渣加乙酸乙酯0.5mL使溶解作为供试品溶液。按处方及制法,制成缺白芷阴性对照样品,取相当于供试品的量,按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。另取异欧前胡素对照品,加乙酸乙酯制成每1mL含1mg的溶液,作为对照品溶液。吸取上述供试品溶液、白芷阴性对照溶液各15μL,异欧前胡素对照品溶液2μL,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,以石油醚(30~60℃)-乙醚(5:2)为展开剂,展开,取出,凉干,置紫外光灯(365nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。白芷阴性对照色谱相应位置无斑点,说明阴性对照溶液对鉴别无干扰。见图1。

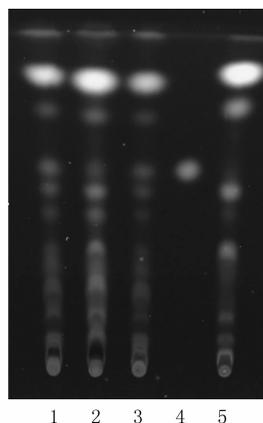


图1 芎菊上清丸中白芷薄层色谱图

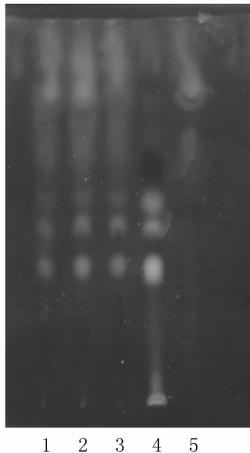
1,2,3 - 供试品;4 - 异欧前胡素;5 - 缺白芷阴性对照

**Fig 1** TLC identification of *Radix Angelicae Dahuricae* in Xiongju Shangqing pills

1,2,3 - sample;4 - Isoimperatorin;5 - negative reference without *Radix Angelicae Dahuricae*

**2.1.2 菊花** 取白芷薄层鉴别项下的药渣,加稀盐酸1mL与乙酸乙酯50mL,超声处理30min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇2mL使溶解,作为供试品溶液。按处方及制法,制成缺菊花阴性对照样品,取相当于供试品的量,按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。另取菊花对照药材0.5g,同法制成对照药材溶液。吸取上述3种溶液各2μL,分别点于同一聚酰胺薄膜上,以甲苯-乙酸乙酯-甲酸-冰醋酸-水(1:15:1:1:2)的上层溶液为展开剂,展开,取出,凉干,置紫外光灯(365nm)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。菊花阴性对照色谱相应位置无斑点,说明阴性对照溶液对鉴别无干扰。见图2。



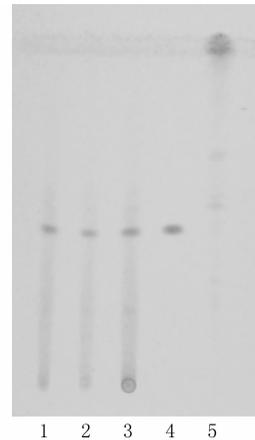
**图2** 芎菊上清丸中菊花薄层色谱图  
1,2,3 - 供试品;4 - 菊花对照药材;5 - 缺菊花阴性对照  
**Fig 2** TLC identification of *Flos Chrysanthemi* in Xiongju Shangqing pills

1,2,3 - sample;4 - *Flos Chrysanthemi* reference medicinal materials;5 - negative reference without *Flos Chrysanthemi*

**2.1.3 栀子** 取本品9 g,剪碎,加硅藻土6 g,研匀,加甲醇40 mL,超声处理20 min,滤过,滤液蒸干,残渣加少量水使溶解,通过D101大孔吸附树脂柱(内径1.5 cm,柱高12 cm),以水100 mL洗脱,弃去水液,再用30%乙醇100 mL洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加甲醇1 mL使溶解,作为供试品溶液。按处方及制法,制成缺栀子阴性对照样品,取相当于供试品的量,按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。另取栀子苷对照品,加乙醇制成每1 mL含1 mg的溶液,作为对照品溶液。吸取上述3种溶液各4  $\mu$ L,分别点于同一硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水(15:40:22:10)10  $^{\circ}$ C放置的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以5%香草醛硫酸溶液,105  $^{\circ}$ C加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。栀子阴性对照色谱相应位置无斑点,说明阴性对照溶液对鉴别无干扰。见图3。

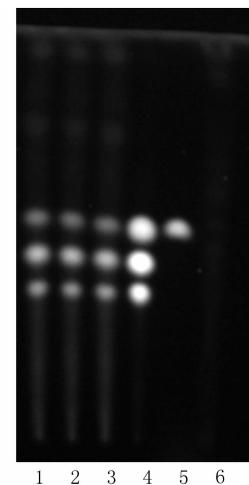
**2.1.4 黄连** 取本品3 g,剪碎,加硅藻土2 g,研匀,加甲醇10 mL,超声处理20 min,滤过,滤液作为供试品溶液。按处方及制法,制成缺黄连阴性对照样品,取相当于供试品的量,按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。另取黄连对照药材30 mg,加甲醇5 mL,同法制成对照药材溶液。再取盐酸小檗碱对照品,加甲醇制成每1 mL含0.2 mg的溶液,作为对照品溶液。吸取上述供试品溶液、黄连阴性

对照溶液各4  $\mu$ L,对照药材溶液、对照品溶液各2  $\mu$ L,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,以正丁醇-冰醋酸-水(7:1:2)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,在与对照药材及对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。黄连阴性对照色谱相应位置无斑点,说明阴性对照溶液对鉴别无干扰。见图4。



**图3** 芎菊上清丸中栀子薄层色谱图  
1,2,3 - 供试品;4 - 栀子苷;5 - 缺栀子阴性对照  
**Fig 3** TLC identification of *Fructus Gardeniae* in Xiongju Shangqing pills

1,2,3 - sample;4 - berberine hydrochloride;5 - negative reference without *Fructus Gardeniae*



**图4** 芎菊上清丸中黄连薄层色谱图  
1,2,3 - 供试品;4 - 黄连对照药材;5 - 盐酸小檗碱;6 - 缺黄连阴性对照

**Fig 4** TLC identification of *Rhizoma Coptidis* in Xiongju Shangqing pills

1,2,3 - sample;4 - *Rhizoma Coptidis* reference medicinal materials;5 - berberine hydrochloride;6 - negative reference without *Rhizoma Coptidis*

## 2.2 含量测定

取本品,剪碎,取约1 g,精密称定,加硅藻土0.6

g, 研匀, 转移至具塞锥形瓶中, 加 70% 乙醇 50 mL, 超声处理 30 min, 放冷, 滤过, 滤液置 100 mL 量瓶中, 用少量 70% 乙醇分次洗涤容器和残渣, 洗液滤入同一量瓶中, 加 70% 乙醇至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。精密称取黄芩苷对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 50  $\mu\text{g}$  的溶液, 作为对照品溶液。色谱柱

为 Waters Spherisorb ODS2 柱 (4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ), 流动相为甲醇-水-磷酸 (46: 54: 0.2), 流速为 0.8 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>, 检测波长为 277 nm。在此色谱条件下, 色谱峰分离度好, 且阴性对照样品对检测无干扰, 色谱图见图 5。

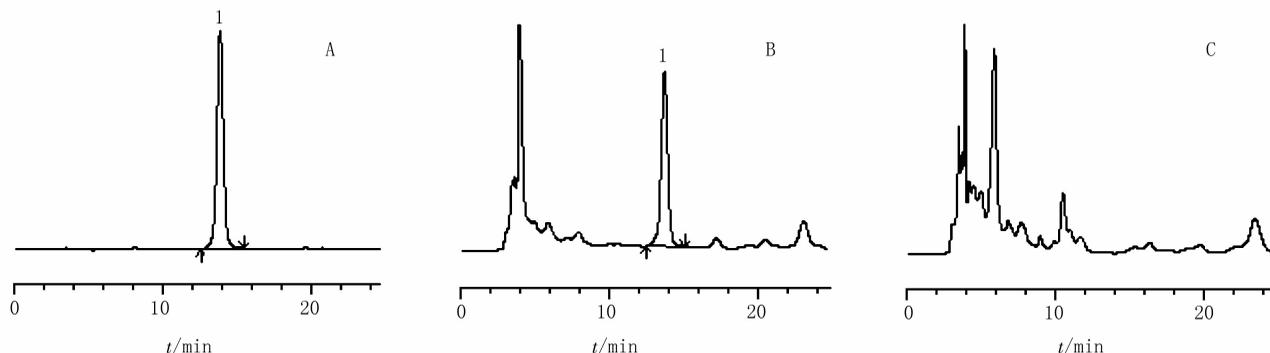


图 5 黄芩苷(A)、芎菊上清丸(B)和阴性对照(C)液相色谱图

Fig 5 HPLC Chromatograms of baicalin (A), Xiongju Shangqing pills (B) and negative sample (C)

**2.2.1 线性关系** 精密吸取每 1 mL 各含 0.004 96, 0.019 84, 0.049 6, 0.099 2, 0.248 mg 的系列黄芩苷对照品溶液各 10  $\mu\text{L}$ , 注入液相色谱仪, 记录峰面积, 以对照品的浓度 ( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 为横坐标, 测得的峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程:  $Y = 4 \times 10^7 X - 4\ 676$ ,  $r = 1.000$ 。结果表明, 黄芩苷对照品浓度在 0.004 96 ~ 0.248  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  之间与其峰面积呈良好的线性关系。

**2.2.2 精密度试验** 取同一批供试品 (批号: 20051213) 6 份, 按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 进样测定。结果含量平均值为 53.17  $\text{mg} \cdot \text{丸}^{-1}$ , RSD 为 0.6%, 表明重复性良好。

**2.2.3 回收率试验** 取同一批已知含量 (批号: 20051213, 含量为 53.17  $\text{mg} \cdot \text{丸}^{-1}$ , 相当于 6.002  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ) 的供试品 6 份, 分别精密加入黄芩苷对照品溶液 (0.283 4  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 10 mL, 按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 进样测定, 计算黄芩苷的回收率。结果平均回收率为 96.6%, RSD = 1.1%, 结果见表 1。

表 1 回收率试验结果 ( $n=6$ )

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

已知量 /mg	加入量 /mg	测定结果 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
3.036	2.834	5.768	96.4	96.6	1.1
3.053	2.834	5.842	98.4		
3.074	2.834	5.794	96.0		
3.079	2.834	5.784	95.4		
3.032	2.834	5.780	97.0		
3.008	2.834	5.746	96.6		

**2.2.4 稳定性试验** 取同一份供试品溶液, 按含量测定方法, 分别在 0, 2, 4, 6, 8, 12 h 进样测定。结果测得的黄芩苷峰面积的 RSD = 0.5%, 表明供试品溶液在 12 h 内基本稳定。

**2.2.5 样品的测定** 取本品 12 批, 按“2.2.1”项下方法制备供试品溶液, 进样测定, 结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果 ( $n=2$ )

Tab 2 Results of sample determination ( $n=2$ )

生产厂家	批号	黄芩苷含量 /mg $\cdot$ 丸 <sup>-1</sup>
内蒙古亿利科技实业股份有限公司药业分公司	040410	63
	040816	61
	20050414	52
	20050609	56
	20050906	61
	20051213	52
黑龙江葵花药业股份有限公司	20060303	63
	20060616	46
	20061020	52
	20061001	77
	20061002	79
	20061003	72

### 3 讨论

川芎为芎菊上清丸 (大蜜丸) 处方中的主药, 笔者考察了不同条件下川芎的薄层色谱鉴别, 但均存在阴性干扰, 可能是因为本方中除川芎外, 还有防风、羌活、藁本等伞形科来源的药材, 因此未收载川

芎的薄层色谱鉴别。

栀子薄层鉴别中,考虑到本品为大蜜丸,将供试品甲醇超声提取物通过 D-101 大孔吸附树脂,分别用 30% 乙醇、50% 乙醇、70% 乙醇、乙醇洗脱,收集洗脱液,蒸干,甲醇溶解,点于同一硅胶 G 薄层板上,结果以 30% 乙醇洗脱部分的栀子苷斑点最清晰。

提取方法的考察 首先比较了回流提取法和超

声提取法,结果表明 2 种方法的提取效果无明显差异,然后比较了分别用甲醇、70% 乙醇、稀乙醇作为提取溶剂的提取效果,结果以 70% 乙醇提取所得样品的黄芩苷含量最高,最后以 70% 乙醇为溶剂超声提取法考察了 30,60,90 min 的提取效果,结果以提取 30 min 和 60 min 所得样品的黄芩苷含量较高,且二者无明显差别。

收稿日期:2008-03-03