

银桂抗炎合剂质量标准研究

车景超, 田英*, 徐平, 王鹏光(山东青岛中西医结合医院, 山东 青岛 266002)

摘要:目的 建立银桂抗炎合剂的质量标准。方法 采用薄层色谱法对制剂中的丹参、紫花地丁进行定性鉴别, 采用 HPLC 对主要有效成分盐酸小檗碱进行含量测定。结果 丹参、紫花地丁的薄层色谱法鉴别专属性强, 阴性无干扰; 含量测定结果显示, 盐酸小檗碱浓度在 $7.80\sim 78.00\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($r=0.999\ 3$) 内与峰面积呈良好的线性关系, 平均加样回收率为 98.09% ($n=6$), $\text{RSD}=1.09\%$ 。结论 本方法简便、专属性强, 重复性好, 可用于银桂抗炎合剂的质量控制。

关键词: 银桂抗炎合剂; 质量标准; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.1; R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2019)08-0961-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.08.013

引用本文: 车景超, 田英, 徐平, 等. 银桂抗炎合剂质量标准研究[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(8): 961-964.

Study on Quality Standard for Yingui Kangyan Mixture

CHE Jingchao, TIAN Ying*, XU Ping, WANG Pengguang(Shandong Qingdao Hospital of Integrated Traditional and Western Medicine, Qingdao 266002, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the quality standard of Yingui Kangyan mixture. **METHODS** *Salvia miltiorrhiza* and *Viola yedoensis* Makino in Yingui Kangyan mixture were identified with the method of TLC. The concentration of berberine hydrochloride was determined with the method of HPLC. **RESULTS** TLC identifications of *Salvia miltiorrhiza* and *Viola yedoensis* Makino were specific, and no interference was observed in negative control samples. The calibration curve of berberine hydrochloride demonstrated a good linear relationship in the range of $7.80\sim 78.00\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($r=0.999\ 3$), and the average recovery rate was 98.09% ($n=6$), $\text{RSD}=1.09\%$. **CONCLUSION** The method is simple, specific, reproducible, and suitable for quality control of Yingui Kangyan mixture.

KEYWORDS: Yingui Kangyan mixture; quality standard; TLC; HPLC

银桂抗炎合剂是由山东青岛中西医结合医院自主研制生产的中药制剂, 由紫花地丁、金银花、黄柏、丹参、三棱、莪术、桂枝、橘核组方而成。银桂抗炎合剂具有清热解毒, 活血化瘀之功效, 临床用于热毒蕴结所致的附件炎、盆腔炎及各种妇科术后感染等症。处方君药为紫花地丁、金银花, 臣药为黄柏、丹参。银桂抗炎合剂现行的质量标准(鲁药制 ZBZ1034)中鉴别项为金银花、黄柏, 无含量测定项。

为加强对银桂抗炎合剂的质量控制, 在原有质量标准的基础上, 本实验采用薄层色谱鉴别法(TLC)对银桂抗炎合剂中的紫花地丁、丹参进行定性鉴别, 采用 HPLC 对黄柏主要成分盐酸小檗碱进行含量测定。

1 仪器与试剂

LC-20AT 型高效液相色谱仪(日本岛津), 包括 SPD-20A 紫外-可见检测器、LC Solution 工作站。BSM-120.4 电子分析天平(上海卓精电子科技

有限公司)。601 型恒温水浴锅(江苏金坛正基仪器有限公司)。KQ-250B 型超声波清洗器(江苏昆山仪器有限公司)。丹参对照药材(批号: 120923-201414)、紫花地丁对照药材(批号: 121429-201104)、盐酸小檗碱对照品(批号: 110713-201212, 纯度 $\geq 98\%$)、丹参素钠对照品(批号: 110855-200809; 纯度 $\geq 98\%$)均购自中国食品药品检定研究院。银桂抗炎合剂(批号: 20161201, 20161202, 20161203)、缺丹参和缺紫花地丁的阴性对照样品合剂均由医院制剂室提供。硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工厂); 乙腈为色谱纯; 其他试剂均为分析纯; 水为娃哈哈纯净水。

2 薄层鉴别

2.1 丹参的 TLC 鉴别

2.1.1 供试品溶液的制备 取本品 40 mL, 用乙酸乙酯振摇提取 2 次, 每次 25 mL, 分取乙酸乙酯液, 蒸干, 残渣加甲醇 2 mL 使溶解, 作为供试品溶液。

作者简介: 车景超, 女, 硕士, 主管药师
Tel: 13405325831 E-mail: 1856398818@163.com

Tel: 13405325831 E-mail: cheche00p@126.com

*通信作者: 田英, 女, 副主任药师 Tel:

2.1.2 对照药材溶液的制备 取丹参对照药材 1 g, 加水 100 mL, 煎煮 1 h, 滤过, 滤液浓缩至约 40 mL, 放冷, 用乙酸乙酯振摇提取 2 次, 每次 25 mL, 合并提取液, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为对照药材溶液。

2.1.3 对照品溶液的制备 取丹参素钠对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液, 作为对照品溶液。

2.1.4 阴性对照溶液的制备 取处方中除去丹参的其他药味, 按处方比例照制剂工艺制备成缺丹参的阴性对照样品合剂, 按“2.1.1”项下方法制成阴性对照溶液。

2.1.5 TLC 鉴别 照 TLC 法(中国药典 2015 年版四部薄层色谱法通则 0502)试验, 吸取上述 4 种溶液各 10 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-丙酮-甲酸(8:4:1.5)为展开剂^{[1]921}, 展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 香草醛的 10% 硫酸乙醇溶液。结果见图 1。在与丹参对照药材及丹参素钠对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 阴性对照样品无相应的斑点。

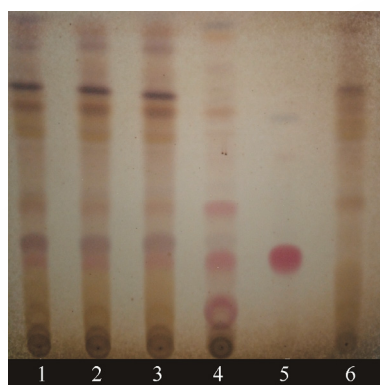


图 1 银桂抗炎合剂中丹参日光检视的薄层色谱图

1~3-供试品; 4-丹参对照药材; 5-丹参素钠对照品; 6-缺丹参阴性对照样品溶液。

Fig. 1 TLC Chromatograms of *Salvia miltiorrhiza* in Yingui Kangyan mixture in sunlight

1~3-samples; 4-*Salvia miltiorrhiza* reference drug; 5-Danshensu sodium reference substance; 6-negative sample without *Salvia miltiorrhiza*.

2.2 紫花地丁的 TLC 鉴别

2.2.1 供试品溶液的制备 取“2.1.1”项下的供试品溶液作为紫花地丁 TLC 鉴别的供试品溶液。

2.2.2 对照药材溶液的制备 取紫花地丁对照药材 3 g, 加水 100 mL, 煎煮 1 h, 滤过, 滤液浓缩至约 40 mL, 放冷, 用乙酸乙酯振摇提取 2 次, 每次 25 mL, 合并提取液, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为对照药材溶液。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 取处方中除去紫花地丁的其他药味, 按处方比例照制剂工艺制备成缺紫花地丁的阴性对照样品合剂, 同供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。

2.2.4 TLC 鉴别 照 TLC 法(中国药典 2015 年版四部薄层色谱法通则 0502)试验, 吸取上述 3 种溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(5:3:1)的上层溶液为展开剂^{[1]338}, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365 nm)下检视。结果见图 2。在与紫花地丁对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点, 缺紫花地丁阴性对照样品均无相应的斑点。

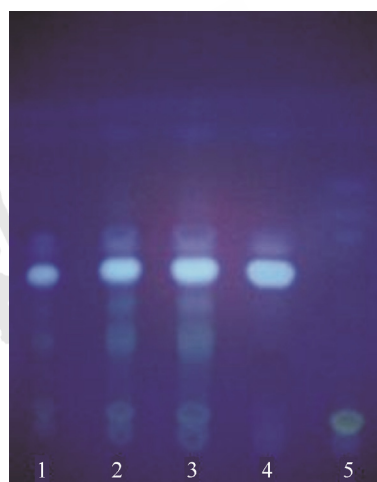


图 2 银桂抗炎合剂中紫花地丁紫外光灯(365 nm)检视的薄层色谱图

1~3-供试品; 4-紫花地丁对照药材; 5-缺紫花地丁阴性对照样品溶液。

Fig. 2 TLC Chromatograms of *Viola yedoensis* Makino in Yingui Kangyan mixture in UV light(365 nm)

1~3-samples; 4-*Viola yedoensis* Makino reference drug; 5-negative sample without *Viola yedoensis* Makino.

3 含量测定

3.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱为 Diamonsil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈-0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液(氢氧化钠试液调节 pH 值至 5.0)(25:75)^{[1]796}; 检测波长: 346 nm; 柱温: 25 $^{\circ}$ C; 体积流量: 1.0 mL·min⁻¹。理论板数按盐酸小檗碱峰计算应 $\geq$ 3 000。

3.2 专属性试验

3.2.1 对照品溶液的制备 取盐酸小檗碱对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 含 40 μ g 的溶液, 即得。

3.2.2 供试品溶液的制备 精密量取样品 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加盐酸-甲醇(1:100)约 7 mL,

超声处理(功率 250 W, 频率 40 kHz)30 min, 放冷, 用盐酸-甲醇(1:100)稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

3.2.3 阴性对照样品溶液的制备 按处方配比, 取除黄柏外的其他药味, 照工艺方法制备缺黄柏的阴性对照样品, 按“3.2.2”项下方法项下制备, 即得。

精密量取上述 3 种溶液各 10 μL , 注入高效液相色谱仪。结果见图 3。供试样品在盐酸小檗碱对照品色谱峰位处有相应的色谱峰出现; 阴性对照样品无相应色谱峰出现。结果表明, 该制剂中其他组分对盐酸小檗碱的测定无干扰。

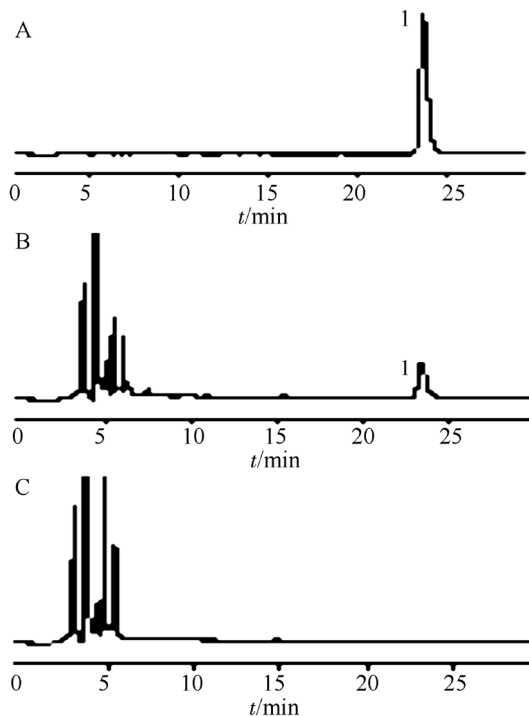


图 3 高效液相色谱图

A-对照品溶液; B-供试品溶液; C-阴性对照样品溶液; 1-盐酸小檗碱。

Fig. 3 HPLC Chromatograms

A-reference substance solution; B-sample solution; C-negative reference sample solution; 1-berberine hydrochloride.

3.3 线性关系考察

精密称取盐酸小檗碱对照品适量, 加甲醇配成 $78.00 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液。精密量取 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 mL 盐酸小檗碱对照品溶液, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀。分别进样分析, 以测得的峰面积积分值(Y)与盐酸小檗碱的浓度(X)绘制标准曲线, 得回归方程为: $Y=10.65X-8.3025$, 相关系数 $r=0.9993(n=6)$ 。结果表明, 盐酸小檗碱在 $7.80\sim78.00 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内与

峰面积呈良好的线性关系。

3.4 仪器精密度试验

精密吸取对照品溶液(浓度为 $78.00 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 5 μL , 连续进样 6 次, 结果含量 RSD 为 0.80%, 表明仪器精密度良好。

3.5 重复性试验

精密吸取同一批样品(批号: 20161201) 1.0 mL, 共 6 份, 按“3.2.2”项下方法制备 6 份样品溶液, 进样量 10 μL , 分别测定盐酸小檗碱峰面积, 并计算盐酸小檗碱含量, 结果含量重复性 RSD 为 0.94%, 表明重复性较好。

3.6 稳定性考察

精密吸取同一供试品溶液(批号: 20161201), 每隔一定时间进样一次, 测定盐酸小檗碱峰面积, 并计算盐酸小檗碱含量, 结果含量 RSD 为 1.66%, 结果表明, 供试品溶液在 24 h 内稳定。

3.7 加样回收率试验

精密量取已知含量的样品(批号: 20161201) 1.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 平行 6 份, 分别精密加入盐酸小檗碱对照品适量, 按“3.2.2”项下方法处理, 测定各含量, 计算回收率, 结果见表 1。盐酸小檗碱含量测定加样回收率良好, 该方法准确可靠。

表 1 加样回收试验结果($n=6$)

Tab. 1 Experimental results of recoveries($n=6$)

序号	含量/mg	加入量/mg	测定量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
1	0.090 3	0.093 6	0.183 7	99.79	98.09	1.09
2	0.090 3	0.093 6	0.180 9	96.79		
3	0.090 3	0.093 6	0.181 3	97.22		
4	0.090 3	0.093 6	0.182 2	98.18		
5	0.090 3	0.093 6	0.181 9	97.86		
6	0.090 3	0.093 6	0.182 7	98.72		

3.8 样品含量测定

取 3 个批号的样品, 每批取 2 份, 按“3.2.2”项下方法操作, 依法测定峰面积积分值, 按外标法计算样品中盐酸小檗碱的含量, 结果批号为 20161201, 20161202, 20161203 的 3 批样品的平均含量分别为 90.29, 88.91, 93.63 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

4 讨论

银桂抗炎合剂处方君药紫花地丁具有清热解毒, 凉血消肿, 抗炎、抗菌、抗 HIV 和免疫调节等作用^[2]。黄柏清热燥湿, 泻火除蒸, 解毒疗疮。

丹参活血祛瘀, 通经止痛, 清心除烦, 凉血消痈, 适用于多种瘀血症^[3-4]。

在丹参的薄层色谱鉴别试验中, 采用展开剂三氯甲烷-丙酮-甲酸(25:10:4), 供试品色谱中, 在与对照药材及对照品色谱相应的位置上, 虽显相同颜色的斑点, 但分离度不够好。调整展开剂比例三氯甲烷-丙酮-甲酸(8:4:1.5), 斑点分离度良好, 且阴性对照无干扰。

中国药典 2015 年版一部紫花地丁项下只有 TLC 鉴别, 无含量测定方法及对照品, 紫花地丁含量测定的相关文献也非常少, 因此, 笔者选取处方臣药黄柏进行了含量测定研究。

黄柏含有多种生物碱, 其主要成分为小檗碱^[5]。小檗碱类生物碱具有抗炎、抗肿瘤、降血糖、调节脂质代谢以及免疫抑制等多种作用^[6]。本研究采用 HPLC 测定银桂抗炎合剂中盐酸小檗碱的含量, 试验结果表明, 该方法简便易行、准确、重复性

好, 可用于银桂抗炎合剂的质量控制。

REFERENCES

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2015: 921, 338, 796.
- [2] ZHU H, QIN S S, ZHANG N, et al. Chemical constituents and biological activities of plants from the genus *Viola* [J]. Chem Biodiver, 2015, 12(12): 1777-1808.
- [3] QU M. Effect observation of *Salvia Miltiorrhiza* Tablets in the relief of angina pectoris after the stent implantation [J]. Contemp Med(当代医学), 2018, 24 (23): 502.
- [4] CHEN Y L, WAN H T, ZHOU H F, et al. Protective effects of *Salvia miltiorrhiza* and *Carthamus tinctorius* active ingredients in different compatibility on cerebral ischemia/reperfusion injury in rats [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2018, 49(16): 3875-3881.
- [5] 王本祥. 现代中药药理与临床[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 2004: 1385.
- [6] XING Y, LIU X, LIN Y, et al. Progress in pharmacological effects and clinical applications of berberine [J]. Chin J Pharmacol Toxicol(中国药理学与毒理学杂志), 2017, 31(6): 491-502.

收稿日期: 2018-04-18

(本文责编: 曹粤锋)