

表 2 样品含量测定结果

批号	含量/mg/袋
200610111	1.98
200612031	2.01
200612021	2.00
200612041	1.99
200610131	2.02

外吸收区的末端,不宜采用,比较了同一份对照品溶液注入液相色谱仪在 228 与 277 nm 波长分别测定,结果在 228 nm 波长处仪器的响应值是 277 nm 的 3 倍。因此采用了 228 nm 作为检测波长。

3.2 提取方法选择 参考中国药典“连翘”及制剂中连翘苷含量测定方法,比较了不同提取溶剂(乙

醇、甲醇);不同提取方法(超声处理与加热回流提取);不同提取溶剂用量(20, 25, 50 mL);不同超声处理时间(10, 20, 30, 40 min)等对含量测定的影响,结果表明:以 20 mL 甲醇作为溶剂,超声处理 30 min,即可将样品中连翘苷提取完全。

3.3 本实验的含量测定方法按中药质量标准分析方法验证指导原则^[1]进行方法学验证,结果良好,方法可行。

参考文献

- [1] 国家药典委员会编. 中国药典(一部). 2005 年版. 北京:化学工业出版社,2005. 附录 114.

四藤片质量标准的研究

杨文虹,马丽莎,罗丽娟(广东省汕头市药品检验所,汕头 515041)

摘要 目的:制订四藤片的质量控制方法。方法:采用薄层色谱法对方中的春根藤、石蒲藤进行定性研究,采用高效液相色谱法,以 Diamonsil C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm)为分析柱,以甲醇-1.2%冰醋酸(15:85)为流动相,检测波长为 327 nm,测定方中忍冬藤的绿原酸含量。结果:春根藤、石蒲藤可用薄层色谱法鉴别;绿原酸进样量在 0.02~1.0 μg 范围内与峰面积具有良好线性关系, $r=0.9999$,加样回收率为 104.40%,RSD%为 0.49%。结论:所建立的方法简便易行、准确、重现性好,可用于四藤片的质量控制。

关键词: 四藤片;春根藤;石蒲藤;绿原酸;HPLC 法

中图分类号:921.2 文献标识码:A 文章编号:1009-3656(2008)-5-342-4

Study on Quality of Siteng Tablets

Yang Wen-hong, Ma Li-sha, Luo Li-juan(Shantou Institute for Drug Control of Guangdong Province, Shantou 515041)

Abstract Objective: To establish the method for quality control of Siteng Tablets. **Methods:** Alyxia sinensis and Pothos chinensis in Siteng Tablets were identified by TLC, the chlorogenic acid was determined by HPLC. The condition of HPLC was Diamonsil C₁₈ column (4.6 mm×250 mm, 5 μm), methanol and 1.2% glacial acetic acid(15:85) as mobile phase, the detection wavelength was 327 nm. Alyxia sinensis and Pothos chinensis can be identified by TLC. **Results:** A good linearity was obtained in the range of 0.02~1.0 μg of the chlorogenic acid($r=0.9999$). The average recovery was 104.40% (RSD% =0.49%). **Conclusions:** The method is simple, accurate and reproducible and can be used for the quality control.

Key words: Siteng Tablets; Alyxia sinensis; Pothos chinensis; Chlorogenic Acid; HPLC

四藤片为《卫生部药品标准》中药成方制剂第十册收载品种,由异型南五味子、石蒲藤、忍冬藤、春根藤等四味药组成,具有祛风利湿,消炎镇痛的功效,临床上用于治疗风湿性关节炎。本品原质量标

准中仅有化学反应鉴别项和检查项,为有效控制产品质量,本文对方中的春根藤、石蒲藤进行薄层色谱法定性研究,其薄层分离效果好,专属性强;建立 HPLC 法对方中的忍冬藤所含绿原酸进行了含量

作者简介:杨文虹,女,副主任中药师。学科及研究方向:药品检验及质量标准修订。联系电话:0754-8353957。

测定,结果准确,方法简便,稳定性、精密度、重复性、回收率均理想,可以很好地控制该制剂的质量。

1 仪器与试药

1.1 仪器

高效液相色谱仪(①Agilent 1100 型,②岛津 LC-10ATvp 型);紫外-可见分光光度计(岛津 2201 型);超声波清洗器[KUDOS SK 250 LHC 型(功率 300W,频率 50kHz)]。

1.2 试药

春根藤对照药材(广东万年青制药有限公司,经中国科学院华南植物研究所标本馆鉴定);石蒲藤(广东万年青制药有限公司,中国科学院华南植物研究所标本馆鉴定);熊果酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110742-200415); β -谷甾醇对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110851-200403);绿原酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号:110753-200413,供含量测定用);四藤片样品(广东万年青制药有限公司,批号为 060501,060502,060503,061104,061105,061106,061207,061208,061209,061210);四藤片分别缺春根藤、石蒲藤、忍冬藤阴性制剂(广东万年青制药有限公司)。甲醇为色谱纯;水为超纯水;其他所用试剂为分析纯。硅胶 G 为青岛海洋化工厂生产。

2 方法与结果

2.1 薄层鉴别

2.1.1 石蒲藤薄层鉴别 取本品 5 片,加乙醇 15 mL,超声 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加乙醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取石蒲藤对照药材 1 g,同法制成对照药材溶液。再取 β -谷甾醇对照品,加乙醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液,作为对照品溶液。另取缺石蒲藤的阴性对照样品,按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 VIB)试验,吸取供试品溶液、阴性对照溶液各 5 μ L,对照药材浓度 3 μ L 及对照品溶液 1 μ L,分别点于以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上,以石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)-乙酸乙酯(8.5:1.5)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 磷钼酸乙醇溶液,在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照药材与对照品色谱相应位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰(见图 1)。

2.1.2 春根藤薄层鉴别 取本品 10 片,加甲醇 20 mL,超声 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加乙醚 2 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取春根藤对照药材



图 1 薄层色谱图

1~3. 供试品(060501,060502,061210);4. 石蒲藤药材

5. β -谷甾醇对照品;6. 缺石蒲藤阴性对照

1 g,同法制成对照药材溶液。再取熊果酸对照品,加乙醚制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液,作为对照品溶液。另取缺春根藤的阴性对照样品,按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 VIB)试验,吸取供试品溶液、阴性对照溶液各 10 μ L,对照药材及对照品溶液各 1 μ 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,以环己烷-三氯甲烷-乙酸乙酯-冰醋酸(20:5:8:0.1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照药材和对照品色谱相应位置上,显相同的紫红色斑点;置紫外光灯(365 nm)下检视,显相同的橙黄色荧光斑点,阴性对照无干扰(见图 2)。

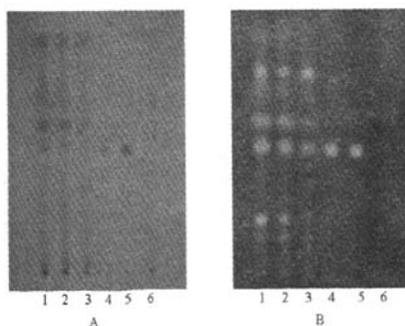


图 2 日光下(A)紫外光灯(365 nm)下(B)图谱

1~3. 供试品(060501,060502,061210);4. 春根藤药材

5. 熊果酸对照品;6. 缺春根藤阴性对照

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱:[①Dikma Diamonsil C₁₈(4.6 mm \times 250 mm,5 μ m),②Kromasil 100-5 C₁₈(4.6 mm \times 250 mm,5 μ m)];流动相:甲醇-1.2%冰醋酸(15:85);检测波长:327 nm;流速:1.0 mL \cdot min⁻¹;柱温:35 $^{\circ}$ C;进样量:20 μ L。理论板数按绿原酸峰计算应不低于 4 000。

2.2.2 对照品溶液贮备液和对照品溶液的制备

精密称取经五氧化二磷减压干燥 24 h 的绿原酸对照品适量,精密称定,置棕色量瓶中,加 50% 甲醇适量使溶解并制成每 1ml 含绿原酸 0.2 mg 的溶液,作为对照品溶液贮备液;再取对照品贮备液适量,加 50% 甲醇制成每 1ml 含绿原酸 8 μg 的溶液,作为对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品 10 片,精密称定,研细,取适量(约相当于本品 1 片),精密称定,置 50 mL 棕色量瓶中,加 50% 甲醇约 40 mL,超声处理(功率 300 W,频率 50 kHz)30 min,放冷,加 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.4 阴性对照溶液的制备 取缺忍冬藤的阴性制剂适量(约相当于供试品的量),按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。

2.2.5 线性关系考察 精密吸取对照品溶液贮备液 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0, 4.0, 5.0 μL(采用自动进样器),注入液相色谱仪,记录色谱图。以对照品进样量(μg)为横坐标,以峰面积为纵坐标,求得绿原酸的回归方程为: $Y = 2.9684 \times 10^3 X - 1.4208 \times 10^4$, $r = 0.9999$ 。结果表明绿原酸进样量在 0.02 ~ 1.0 μg 范围内与峰面积具有良好的线性关系。

2.2.6 精密度试验 (1)精密度试验:精密吸取含量测定项下的对照品溶液,连续进样 8 次,绿原酸峰面积的 RSD 为 0.53% ($n = 8$)。(2)重复性试验:取同一批号(批号为 060501)样品 6 份,依法制备供试品溶液,测定,平均含量为 0.334 8(mg/片),RSD% 为 0.43% ($n = 6$)。(3)中间精密度:取同一批号(批号为 060501)样品,分别由不同实验者采用不同高效液相色谱仪、不同色谱柱依法测定(实验者①采用 Agilent 1100 高效液相色谱仪,色谱柱 Dikma Diamonsil C18(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);实验者②采用岛津 LC-10ATvp 高效液相色谱仪,色谱柱 Kromasil 100-5 C18(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)),结果见表 1。

表 1 中间精密度

实验者	测得量① (mg/片)	测得量② (mg/片)	平均 (mg/片)
实验者①	0.335 6	0.335 0	0.334 8
	0.334 7	0.333 7	
实验者②	0.347 1	0.344 2	0.346 4
	0.347 6	0.346 6	

2.2.7 稳定性试验 取同一份供试品溶液(批号为 060501),在不同时间分别进样 20 μL,结果表明在 24 h 内所得的峰面积基本稳定,峰面积 RSD 为

1.48% ($n = 6$)。

2.3 专属性

照上述色谱条件,吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 20 μL,分别注入液相色谱仪,进行测定。结果,阴性对照溶液在与绿原酸对照品色谱相同保留时间处未显色谱峰,故认为无干扰。供试品色谱的绿原酸峰与相邻峰分离度大于 1.5,符合《中国药典》2005 年版一部附录的有关要求,见图 3。

2.4 加样回收率试验

精密称取已知含量的同一批号(批号为 060501,含量 0.966 2 mg · g⁻¹)的样品 6 份,每份取样量为供试品取样量的 50%,分别精密加入对照品溶液(0.0213 6 g · L⁻¹)各 8 mL,按样品测定项下的制备方法制备及色谱条件测定,计算回收率,结果见表 2。

表 2 加样回收率试验

编号	样品称 样量/g	样品中绿原 酸含量/mg	加入绿原 酸量/mg	测得 量/mg	回收 率/%	平均回 收率/%	RSD /%
1	0.177 3	0.171 3	0.170 9	0.348 8	103.86	104.40	0.49
2	0.178 8	0.172 8	0.170 9	0.352 0	104.86		
3	0.176 9	0.170 9	0.170 9	0.349 1	104.27		
4	0.180 5	0.174 4	0.170 9	0.353 6	104.86		
5	0.184 5	0.178 3	0.170 9	0.357 4	104.80		
6	0.182 8	0.176 6	0.170 9	0.353 9	103.74		

2.5 样品测定

取不同批号的 10 批四藤片,依法测定,以外标法计算含量,结果见表 3。

表 3 四藤片中的绿原酸含量测定结果($n = 4$)

批号	平均(mg/片)
060501	0.334 8
060502	0.342 7
060503	0.336 2
061104	0.348 4
061105	0.342 2
061106	0.344 4
061207	0.171 7
061208	0.171 6
061209	0.183 7
061210	0.184 5

3 讨论

3.1 提取溶剂的选择

根据文献^[1,2]报道,丙酮、乙醇、甲醇、水、50% 甲醇均可作为绿原酸的提取溶剂,经试验,将批号为 060501 样品分别用上述几种溶剂提取后测定,结果以 50% 甲醇的提取率较高且杂质较少,故选用 50% 甲醇作为提取溶剂。

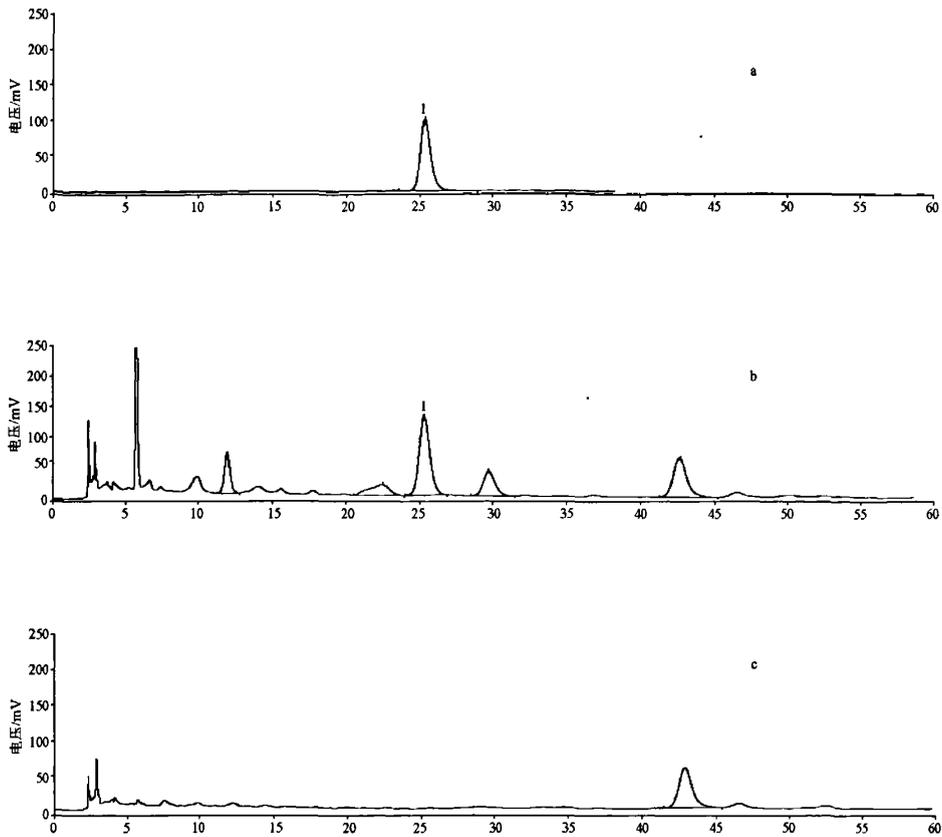


图3 四藤片 HPLC 色谱图

a. 对照品; b. 样品; c. 阴性对照; 1. 绿原酸

3.2 提取溶剂用量的选择

取同一批号的样品(批号 060501)粉末分别称取 3 份,精密称定,按供试品溶液制备方法操作,50% 甲醇用量分别为:① 25 mL; ② 50 mL; ③ 100 mL,分别取续滤液作为供试品溶液,依法测定,结果表明 25 mL 已基本提取完全,但考虑到投料的每批药材的含量高低不同,为稳妥起见,确定用量为 50 mL。

3.3 提取时间的选择

取同一批号的样品(批号 060501)粉末分别称取 3 份,精密称定,按供试品溶液制备方法操作,用 50% 甲醇 50 mL 超声提取,时间分别为:① 20 min; ② 30 min; ③ 40 min,分别取续滤液作为供试品溶液,依法测定,结果表明 20 min 的提取率与 30, 40 min 一致,确定超声时间为 30 min。

3.4 测定波长的选择

取绿原酸对照品的 50% 甲醇溶液($0.01 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$),于紫外分光光度计上在 200 ~ 400 nm 波长范围内扫描。结果在 327.2 nm 波长处有最大吸收,与文献^[1]所用的测定波长一致,故选择 327 nm 作为测定波长。

3.5 流动相的选择

曾试用下列流动相:① 乙腈-0.4% 磷酸溶液(10:90); ② 甲醇-1.2% 冰醋酸溶液(15:85); 采用流动相②所得的供试品色谱中,绿原酸色谱峰与相邻的杂质峰得到较好分离,在不同色谱柱的分离度均达 1.5 以上,峰形对称,实际板数均达 6 000 以上,且全程洗脱时间较短,故选择此流动相组成及比例。

参考文献

- [1] 中国药典. 一部, 2005: 133
- [2] 国家医药管理局中草药情报中心站. 植物药有效成分手册. 北京: 人民卫生出版社, 1986: 209.

四藤片质量标准的研究

作者: [杨文红](#), [马丽莎](#), [罗丽娟](#), [Yang Wen-hong](#), [Ma Li-sha](#), [Luo Li-juan](#)
作者单位: [广东省汕头市药品检验所, 汕头, 515041](#)
刊名: [中国药品标准](#)
英文刊名: [DRUG STANDARDS OF CHINA](#)
年, 卷(期): 2008, 9(5)

参考文献(2条)

1. [中国药典. 一部](#) 2005
2. [国家医药管理局中草药情报中心站 植物药有效成分手册](#) 1986

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zgypbz200805009.aspx