

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.04.009

肠可宁微丸质量标准研究

王明华

(辽宁省沈阳市肛肠医院, 辽宁 沈阳 110002)

摘要:目的 建立肠可宁微丸的质量标准。方法 采用薄层色谱(TLC)法定性鉴别黄芪、黄柏;采用高效液相色谱法测定盐酸小檗碱的含量,色谱柱为 YMC-Pack ODS 柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液(25:75, V/V),流速为 1.0 mL/min,检测波长为 345 nm,柱温为 30℃,进样量为 10 μL。结果 黄芪、黄柏的 TLC 图斑点清晰,分离度好,阴性对照无干扰。精密度、稳定性、重复性试验的 RSD 均小于 3%;盐酸小檗碱质量浓度在 10~100 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好, $r=0.9997$ ($n=5$);回收率为 99.84%~102.93%, RSD 为 1.21% ($n=6$)。结论 该方法操作简单,精密度、稳定性、重复性均好,专属性强,可用于肠可宁微丸的质量控制。

关键词:肠可宁微丸;黄芪;黄柏;盐酸小檗碱;薄层色谱法;高效液相色谱法;质量标准

中图分类号:R932;R286.0

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2019)04-0028-03

Study on the Quality Standard of Changkening Pellets

WANG Minghua

(Shenyang Anorectal Hospital, Shenyang, Liaoning, China 110002)

Abstract: Objective To establish the quality standard of Changkening Pellets. Methods TLC method was used for qualitative identification of *Astragalus membranaceus* and *Phellodendron chinense* in Changkening Pellets. HPLC method was used for the content determination of berberine hydrochloride in this preparation, the chromatographic column was YMC-Pack ODS column(150 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile-0.05 mol/L potassium dihydrogen phosphate(25:75, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 345 nm, the column temperature was 30℃, and the sample size was 10 μL. Results The TLC spots of *Astragalus membranaceus* and *Phellodendron chinense* were clear, with good separation and no interference from negative control, and RSDs of precision, stability and repeatability tests were less than 3%. The berberine hydrochloride showed a good linear relationship in the range of 10~100 μg/mL, $r=0.9997$ ($n=5$). The average recovery was 99.84%~102.93%, RSD was 1.21% ($n=6$). Conclusion The method is simple, accurate, stable, reproducible and specific, which can be used for the quality control of Changkening Pellets.

Key words: Changkening Pellets; *Astragalus membranaceus*; *Phellodendron chinense*; berberine hydrochloride; TLC; HPLC; quality standard

中医认为,慢性结肠炎主要是由湿寒之邪内侵脏腑所致运化失调,或湿热中阻导致气滞血瘀而引发的寒热

错杂,病机是脾胃功能障碍,故治疗的根本应是恢复、调和脾胃功能^[1-2]。肠可宁微丸由黄芪、黄连、黄柏、白术、

第一作者:王明华,女,大学本科,副主任药师,研究方向为中药制剂生产、工艺及质量标准,(电子信箱)44962799@qq.com。

- [3] 王红芯,应光耀,孔维军,等. 生姜及其炮制品中姜辣素的研究进展[J]. 中南药学,2017,15(3):324-328.
- [4] 谭建宁,梁臣艳,黄秋洁,等. 广西生姜挥发油化学成分的 GC-MS 研究[J]. 中国药房,2012,23(3):240-243.
- [5] 宣伟东,卞俊,袁兵,等. 生姜化学成分的研究[J]. 中草药,2008,39(11):1616-1619.
- [6] 胡许欣,刘晓,楚玉,等. 生姜中有效部位及相关活性成分的止呕作用研究[J]. 中国中药杂志,2016,41(5):904-909.
- [7] 刘丹,张程慧,安容慧,等. 生姜主要生物活性成分提取及应用研究进展[J]. 食品工业科技,2016,37(20):391-395.
- [8] 谷满仓,钱亚芳,李大鹏. 超临界流体分离技术萃取中药活性成分的研究进展[J]. 中国药业,2009,18(16):21-22.
- [9] 高淑云. 微波消解-火焰原子吸收法测定生姜中 Cu, Mn, Zn, Cd 微量元素[J]. 中国调味品,2010,35(7):102-106.
- [10] 高淑云,刘延庆. 火焰原子吸收法测定生姜中 6 种元素含量[J]. 微量元素与健康研究,2007,24(5):42-43.
- [11] 王丽,符德欢,李学芳,等. 微波消解 AAS、AFS 法测定不

- 同产地红花中 As、Hg、Pb、Cd、Cu 含量[J]. 中国民族民间医药,2017,26(15):18-20.
- [12] 蔡伟,熊耀康,盛振华,等. ICP-OES 测定不同产地浙贝母中的 18 种微量元素含量[J]. 中国现代应用药学,2013,30(3):277-280.
- [13] 杨雪梅,韩伟立,刘洪涛,等. 微波消解 ICP-MS 法测定药材预知子及其提取物中重金属含量[J]. 时珍国医国药,2011,22(8):2012-2013.
- [14] 何平,孙巍,孙玉侠,等. 微波消解-ICP-MS 法测定丹参和三七药材中 18 种重金属元素[J]. 中成药,2011,33(12):2110-2113.
- [15] 黄卫红,李春宇. 微波消解-电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)测定生姜中 7 种元素含量[J]. 中国调味品,2014,39(7):113-115.
- [16] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:101.

(收稿日期:2018-06-12)

厚朴等中药组方,为我院经验用方,有健脾益气、清热利湿、厚肠止泻功效,对慢性结肠炎有较好疗效^[3-4]。为保证该制剂的质量,本研究中采用薄层色谱(TLC)法定性鉴别制剂中的黄芪、黄柏,采用高效液相色谱(HPLC)法测定制剂中的盐酸小檗碱含量。现报道如下。

1 仪器与试药

仪器:1260型高效液相色谱仪(美国Agilent公司);KQ118型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);FA1004A型电子分析天平(上海精天电子仪器有限公司);TGL-16型台式离心机(湖南湘仪实验仪器有限公司)。

试药:肠可宁微丸(我院自制,批号分别为20180311,20180313,20180315,规格为每袋10g);黄芪甲苷对照品(批号为110781-01616,纯度为97.4%),盐酸小檗碱对照品(批号为110713-201212,纯度为86.8%),均购自中国食品药品检定研究院;乙腈和磷酸二氢钠为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为重蒸水。

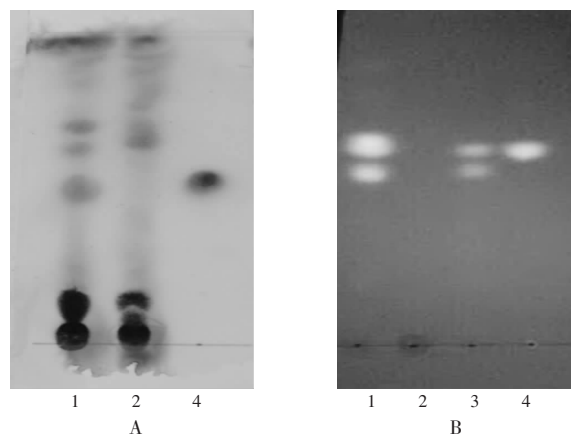
2 方法与结果

2.1 TLC鉴别

黄芪^{[5]302}:取样品20g,加甲醇60mL,加热回流1h,滤过,滤液加于中性氧化铝柱(100~200目,5g,内径为10~15mm)上,用40%甲醇100mL洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加水30mL使溶解,用水饱和的正丁醇振荡提取2次,每次20mL,合并正丁醇液,用氨试液洗涤2次,每次50mL,弃去氨试液,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇1mL使溶解,作为供试品溶液。取黄芪甲苷对照品,加甲醇制成质量浓度为1g/L的对照品溶液。按样品处方和工艺制备缺黄芪的阴性样品,同法制备阴性对照品溶液。按2015年版《中国药典(四部)》通则0502“薄层色谱法”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,以三氯甲烷-甲醇-水(13:7:2,V/V/V)下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,105℃加热至斑点显色清晰,置日光下检视。供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰。详见图1A。

黄柏^{[5]305}:取样品10g,加甲醇30mL,超声(功率为250W,频率为40kHz)处理15min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇5mL使溶解,作为供试品溶液。取黄柏对照药材0.1g,同法制成对照药材溶液。取盐酸小檗碱对照品,加甲醇制成质量浓度为0.5g/L的对照品溶液。按肠可宁微丸处方和工艺制备缺黄柏、黄连药材的阴性样品,同法制备阴性对照品溶液。按2015年版《中国药典(四部)》通则0502“薄层色谱法”试验,吸取上述4种溶液各2 μ L,分别点于同一硅胶G薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯-异丙醇-甲醇-浓氨液(6:3:1.5:1.5:0.5,V/V/V/V/V)为展开剂,置氨蒸气饱和的展开缸内,

展开,取出,晾干,置紫外光灯(365nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材溶液和对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰。详见图1B。



1. 供试品溶液 2. 阴性对照品溶液
3. 对照药材溶液 4. 对照品溶液

A. 黄芪 B. 黄柏

图1 薄层色谱图

2.2 盐酸小檗碱含量测定

2.2.1 色谱条件

色谱柱:YMC-Pack ODS柱(150mm×4.6mm,5 μ m);流动相:乙腈-0.05mol/L磷酸二氢钾溶液(25:75,V/V);流速:1.0mL/min;检测波长:345nm;柱温:30℃;进样量:10 μ L。

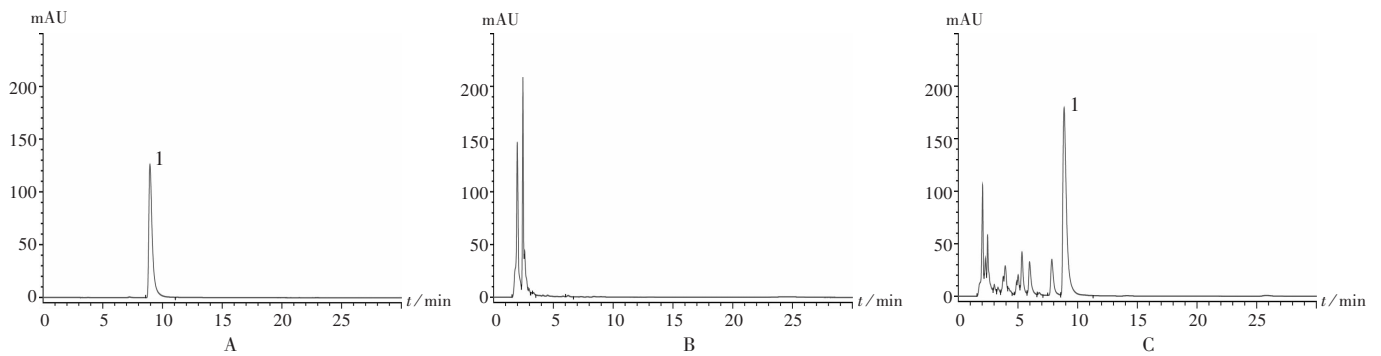
2.2.2 溶液制备

称取盐酸小檗碱对照品适量,加流动相制得质量浓度为40 μ g/mL的对照品溶液。取样品0.5g,置具塞锥形瓶中,精密加入盐酸-甲醇(1:100,V/V)混合溶液100mL,密塞,称定质量,置50℃水浴中加热15min,取出,放冷,超声处理30min,放冷至室温,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,10000r/min离心5min,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。按样品处方和工艺制备缺黄连、黄柏的阴性样品,同法制备阴性对照品溶液。

2.2.3 方法学考察

系统适用性试验和专属性考察:取上述3种溶液各适量,按拟订色谱条件进行测定,记录色谱图,详见图2。理论板数按盐酸小檗碱峰计应不低于4000,分离度>1.5,基线分离良好,阴性对照在与盐酸小檗碱对照品相同保留时间处无干扰峰,表明系统适用性和专属性良好。

线性关系考察:取盐酸小檗碱对照品适量,精密称定,加流动相制得质量浓度为10,20,50,80,100 μ g/mL的系列对照品溶液。精密量取上述溶液各10 μ L,按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积,以峰面积(Y)为纵坐标、盐酸小檗碱质量浓度(X)为横坐标进行线性回归,得回归方程 $Y=44193X-36309$, $r=0.9997(n=5)$ 。结果表明,盐酸小檗碱质量浓度在10~100 μ g/mL范



1. 盐酸小檗碱

A. 对照品溶液 B. 阴性对照品溶液 C. 供试品溶液

图2 高效液相色谱图

围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:精密吸取对照品溶液适量,按拟订色谱条件连续进样6次测定,记录峰面积。结果的 RSD 为 1.27% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取供试品(批号为 2180311)溶液适量,分别于室温下放置 0,2,4,6,8 h,按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积。结果的 RSD 为 2.31% ($n=5$),表明供试品溶液在室温放置 8 h 内基本稳定。

重复性试验:称取同批(批号为 20180311)样品适量,精密称定 5 份,依法制备供试品溶液,再按拟订色谱条件进样分析,记录峰面积。结果的 RSD 为 1.53% ($n=5$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量样品(批号为 20180311,盐酸小檗碱含量为 7.315 2 mg/g),精密称定 6 份,分别加入一定质量浓度的对照品溶液,依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算回收率。结果见表 1。

表1 加样回收试验结果($n=6$)

取样量 (g)	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
0.500 3	3.659 8	4.002 8	7.671 4	100.22	101.43	1.21
0.500 1	3.658 3	4.002 8	7.762 6	102.54		
0.500 0	3.657 6	4.002 8	7.713 9	101.34		
0.499 8	3.656 1	4.002 8	7.652 4	99.84		
0.500 2	3.659 1	4.002 8	7.731 1	101.73		
0.499 7	3.655 4	4.002 8	7.775 4	102.93		

2.2.4 样品含量测定

取 3 批样品各适量,依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件平行进样测定 3 次,记录峰面积,并计算样品含量。结果 3 批样品中盐酸小檗碱的含量分别为 7.315 2, 7.626 5, 7.135 4 mg/g。

3 讨论

肠可宁微丸是我院应用多年的临床制剂,其原方为

散剂,但由于味苦、服用不方便,患者用药依从性差,故将其剂型改良为微丸,并对其质量标准进行了研究。

鉴别黄柏时,尝试了药典方法及多种展开剂^[6-7],分离效果均不理想,最后选用甲苯-乙酸乙酯-异丙醇-甲醇-浓氨液(6:3:1.5:1.5:0.5, V/V/V/V/V)为展开剂,展开效果最好,能满足黄柏的 TLC 鉴别要求。

盐酸小檗碱是黄柏和黄连的主要成分,因此选取该成分为含量指标,考察了不同的流动相^[8-10],结果以乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钠溶液(25:75, V/V)为流动相时,分离度最好,样品无干扰,适合盐酸小檗碱的含量测定。

本研究中建立的方法操作简单,精密度、稳定性、重复性均好,专属性强,可用于肠可宁微丸的质量控制。

参考文献:

- [1] 许玉冰,陈霄,黄燕清. 参苓白术健脾颗粒治疗慢性结肠炎疗效及其对患者免疫功能的影响[J]. 中医临床研究, 2018,10(4):1-3.
- [2] 朴有为. 参苓白术散加减治疗慢性结肠炎 34 例[J]. 中医现代药物应用, 2013,7(18):122-123.
- [3] 崔国宁,刘喜平. 浅谈黄芪在脾胃病治疗中的用药规律[J]. 陕西中医药大学学报, 2018,41(4):15-17.
- [4] 朱莉萍. 黄芪的药理研究及进展[J]. 内蒙古中医药, 2018, 37(3):98-99.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
- [6] 韩毅,于艳,吴振起,等. 清肺膏的质量标准研究[J]. 山西医科大学学报, 2018,49(1):31-35.
- [7] 丰长江,范恒. 复方苦参灌肠剂的质量标准研究[J]. 湖北中医药大学学报, 2018,20(2):35-38.
- [8] 袁宏佳,郭洪明,梅娇,等. HPLC 法测定痔疮外洗颗粒中盐酸小檗碱的含量[J]. 实用中医药杂志, 2018,34(4):502-503.
- [9] 侯晓丽,谭朝丹,时扣荣,等. HPLC 法测定冬柏通淋合剂中盐酸小檗碱的含量[J]. 药学实践杂志, 2017,35(4):353-378.
- [10] 吕本强,范积平,张贞良,等. 高效液相色谱法测定复方石栗喷雾剂中盐酸小檗碱含量[J]. 中国药业, 2017,26(3):15-17.

(收稿日期:2018-06-24)