

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.03.013

# 金槐痔瘕合剂的质量标准提升及应用\*

陈晓双, 马静, 费小凡, 宋毅<sup>△</sup>

(四川大学华西医院临床药理学部, 四川 成都 610041)

**摘要:**目的 完善金槐痔瘕合剂的质量控制方法与标准。方法 建立鉴别金槐痔瘕合剂中地榆、槐花药材的薄层色谱(TLC)法并进行方法学考察;建立测定其指标性成分芦丁的高效液相色谱(HPLC)法。色谱柱为 Diamonsil C<sub>18</sub> 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.4%磷酸水(45:55), 流速为 1 mL/min, 柱温为 35 ℃, 检测波长为 257 nm。结果 TLC 法专属性强, 并能有效鉴别地榆和槐花药材。HPLC 方法学考察结果表明, 芦丁进样量在 0.010 3~0.328 mg 范围内与峰面积值线性关系良好, 回归方程为  $Y = -1365.7X + 8295.7$ ,  $r = 0.9991$  ( $n = 6$ ); 平均回收率为 100.27%, RSD 为 1.24% ( $n = 6$ )。结论 建立的质量控制方法专属性强、稳定性好, 完善并提升了金槐痔瘕合剂的质量标准。

**关键词:**金槐痔瘕合剂; 质量标准; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 地榆; 槐花

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2020)03-0044-03

## Quality Standard Improvement and Application of Jinhuai Zhilou Mixture

CHEN Xiaoshuang, MA Jing, FEI Xiaofan, SONG Yi

(Department of Clinical Pharmacy, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu, Sichuan, China 610041)

**Abstract: Objective** To improve the quality control and standard of Jinhuai Zhilou Mixture. **Methods** A thin-layer chromatography (TLC) method was established to identify the *Sanguisorba Officinalis* and *Sophora Japonica* in Jinhuai Zhilou Mixture, and a methodological investigation was performed. A high performance liquid chromatography (HPLC) method was developed to determine its index component, rutin. The column was Diamonsil C<sub>18</sub> (150 mm × 4.6 mm, 5 μm), and the mobile phase was methanol-0.4% phosphoric acid (45:55) with a flow rate of 1 mL/min, a column temperature of 35 ℃, and a detection wavelength of 257 nm. **Results** The TLC method was highly specific and could effectively identify the materials of *Sanguisorba Officinalis* and *Sophora Japonica*. The HPLC methodological results showed that it was in good linear relationship in the range of 0.010 3-0.328 mg with the regression equation of  $Y = -1365.7X + 8295.7$ ,  $r = 0.9991$  ( $n = 6$ ). The average recovery was 100.27%, RSD was 1.24% ( $n = 6$ ). **Conclusion** The established quality control method is specific and stable, and it has supplemented and improved the quality standard of Jinhuai Zhilou Mixture.

**Key words:** Jinhuai Zhilou Mixture; quality standard; TLC; HPLC; *Sanguisorba Officinalis*; *Sophora Japonica*

金槐痔瘕合剂为院内制剂,属中药复方制剂,功能为清热解毒、凉血止血,主要用于治疗痔疮、出血和疼痛等。金槐痔瘕合剂现行质量标准由四川省食品药品监督管理局发布,标准文号为SZBZ20080892-10(Z)。槐花、地榆均为处方中的臣药,槐花具有清热、凉血、止血等功效,对尿血、痔疮出血等具有显著疗效<sup>[1]</sup>,其主要有效成分为黄酮类化合物芦丁,常用于防治高血压、出血性疾病等,也可用于治疗痔疮<sup>[2-4]</sup>;地榆性寒,有凉血止血,清热解毒,消肿敛疮之功效<sup>[5]</sup>。目前,该制剂仅有金银花、黄柏和芍药的薄层色谱(TLC)鉴别法,无含量测定项,不能准确定量,质量可控性较差。为了加强该制剂的质量控制,更好地保证临床疗效,故本研究中新增加了地榆和槐花的TLC鉴别,并采用高效液相色谱(HPLC)法对芦丁进行含量测定及方法学考察<sup>[6-7]</sup>。现报道如下。

## 1 仪器与试药

### 1.1 仪器

LC-10AT型高效液相色谱仪,CTO-10AS型柱温箱,SCL-10AT型处理器,SPD-10AVP型检测器,均购

自日本岛津公司;ZF-90型多功能暗箱式紫外透射仪(上海宝山顾村光电仪器厂);XP205DR型电子分析天平(METTLER TOLEDO公司,十万分之一)。

### 1.2 试药

金槐痔瘕合剂(自制,批号为170327,170531,170703,规格为每瓶500 mL);地榆对照药材(批号为121286-200402),槐花对照药材(批号为121063-201003),没食子酸对照品(批号为110831-200803,质量分数为90.1%),芦丁对照品(批号为100080-200707),均购于中国药品生物制品检定所。硅胶G薄层板(青岛海洋化工厂,规格为100 mm × 200 mm);甲醇为色谱纯,石油醚(60~90 ℃)、乙酸乙酯、三氯甲烷等其余试剂均为分析纯,水为纯化水。

## 2 方法与结果

### 2.1 TLC鉴别

#### 2.1.1 地榆<sup>[8-9]</sup>

分别取3批金槐痔瘕合剂10 mL,水浴浓缩至约3 mL,加50%甲醇溶液20 mL,加热回流提取1 h,放

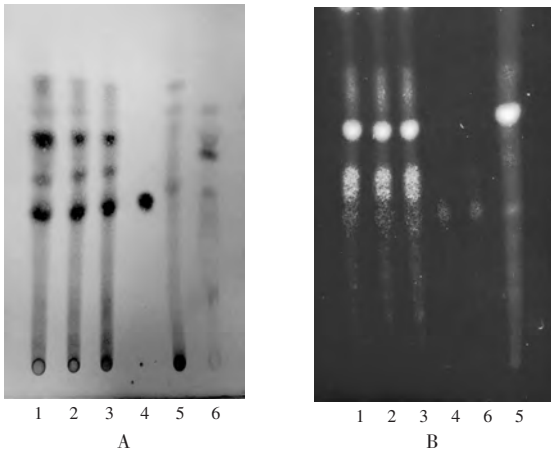
\*基金项目:四川省科技支撑计划项目[2015SZ0039]。

第一作者:陈晓双,女,硕士研究生,药师,主要从事医疗机构制剂质量标准研究工作,(电子信箱)13684009551@126.com。

<sup>△</sup>通信作者:宋毅,女,硕士研究生,主任药师,主要从事中药新药及医院制剂的开发工作,(电子信箱)songyi.scu@foxmail.com。

冷,滤过,滤液用乙醚振摇提取2次,每次20 mL,合并乙醚液,挥干,残渣加甲醇2 mL使溶解,即得供试品溶液。另取地榆对照药材0.5 g,同法制备对照药材溶液。取没食子酸对照品适量,加甲醇制成每1 mL含0.5 mg的对照品溶液。按处方取除地榆之外的其他药材,照金槐痔瘻合剂制备工艺,按供试品溶液制备方法制备阴性对照溶液。

照2015年版《中国药典(四部)》通则0502 TLC法<sup>[10]</sup>,吸取供试品溶液和对照药材溶液10  $\mu$ L,对照品溶液和阴性对照溶液各5  $\mu$ L,分别点于同一硅胶G薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯-甲酸(7:5:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以2%三氯化铁乙醇溶液,日光下检视。供试品溶液色谱中,在与对照品、对照药材溶液色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰(见图1A)。



1-3. 供试品溶液(批号为170327,170531,170703)  
4. 对照品溶液 5. 阴性对照溶液 6. 对照药材溶液  
A. 地榆 B. 槐花  
图1 薄层色谱图

### 2.1.2 槐花<sup>[11-12]</sup>

分别取3批金槐痔瘻合剂3 mL,加石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)振摇提取3次,每次10 mL,弃去石油醚液,水液加甲醇30 mL加热回流30 min,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇溶解,即得供试品溶液。取槐花对照药材0.5 g,加甲醇10 mL,超声处理30 min,滤过,滤液水浴浓缩至约2 mL,即得对照药材溶液。取芦丁对照品适量,加甲醇制成每1 mL含0.2 mg的对照品溶液。按处方取除槐花之

外的其他药材,照金槐痔瘻合剂制备工艺,按供试品溶液制备方法制备阴性对照溶液。

照2015年版《中国药典(四部)》通则0502 TLC法<sup>[7]</sup>,吸取供试品溶液和对照品溶液各5  $\mu$ L,对照药材溶液和阴性对照溶液各10  $\mu$ L,分别点于同一硅胶G薄层板上,以乙酸乙酯-冰乙酸-水(5:1:2)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以2%三氯化铝溶液,在365 nm下检视。供试品溶液色谱中,在与对照品、对照药材溶液色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,阴性对照无干扰(见图1B)。

### 2.2 含量测定<sup>[13-15]</sup>

#### 2.2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Diamonsil C<sub>18</sub>柱(150 mm $\times$ 4.6 mm,5  $\mu$ m);流动相:甲醇-0.4%磷酸水溶液(45:55);流速:1 mL/min;柱温:35 $^{\circ}$ C;检测波长:257 nm;进样量:10  $\mu$ L。在上述色谱条件下分析,与相邻组分峰的分离度均大于1.5。

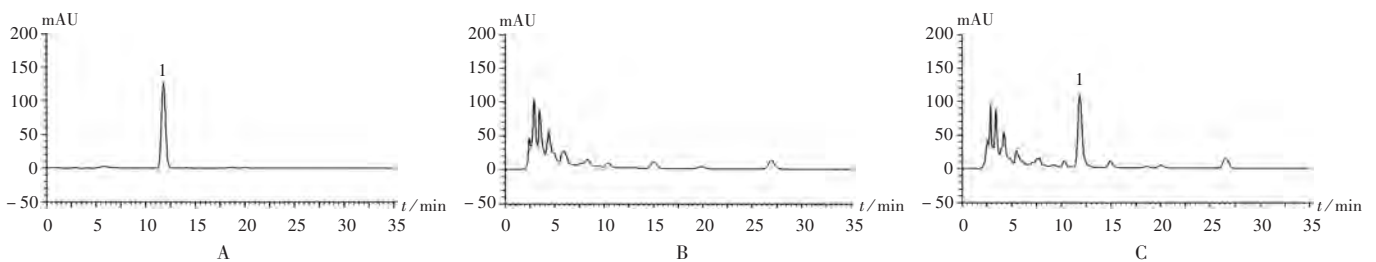
#### 2.2.2 溶液制备

取芦丁对照品1 mg,精密称定,加甲醇制成每1 mL含0.1 mg的溶液,0.45  $\mu$ M微孔滤膜过滤,制得质量浓度为0.082 mg/mL的对照品溶液。精密量取金槐痔瘻合剂上清液2 mL,置具塞锥形瓶中,精密加入75%甲醇50 mL,称定质量,加热回流2 h,放冷,再称定质量,75%甲醇补足质量,0.45  $\mu$ M微孔滤膜过滤,取续滤液作为供试品溶液。同供试品溶液制备法分别按照制剂处方配比,制备缺槐花的阴性对照溶液。

#### 2.2.3 方法学考察

专属性考察:精密吸取芦丁对照品、供试品及阴性对照溶液适量,按拟订色谱条件分别进样10  $\mu$ L,记录色谱图,见图2。结果表明,供试品溶液色谱峰与对照品溶液色谱峰的保留时间一致,且阴性对照无干扰,表明方法专属性良好。

线性关系考察:分别精密量取质量浓度为0.328 mg/mL的芦丁对照品贮备液1 mL,甲醇梯度稀释至终质量浓度分别为0.328 0,0.164 0,0.082 0,0.041 0,0.020 5,0.010 3 mg/mL的芦丁对照品溶液,定量至1 mL。分别吸取上述溶液各10  $\mu$ L注入液相色谱仪,测定峰面积



1. 芦丁  
A. 对照品溶液 B. 阴性对照溶液 C. 供试品溶液

图2 高效液相色谱图

值。以进样量( $X$ , mg)为横坐标、峰面积值( $Y$ )为纵坐标,得芦丁回归方程  $Y = 2 \times 10^7 X + 27\ 183$ ,  $r = 0.999\ 7$  ( $n = 6$ )。结果表明,芦丁进样量在  $0.010\ 3 \sim 0.328\ 0$  mg 范围内与峰面积值线性关系良好。

精密度测定:取芦丁对照品溶液,按拟订色谱条件重复进样6次,测定峰面积值。结果芦丁峰面积的  $RSD$  为  $0.054\%$  ( $n = 6$ ),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取同一供试品溶液(批号为170703),室温下放置,分别于0,1,2,4,8,10 h时按拟订色谱条件进样测定峰面积值。结果芦丁峰面积的  $RSD$  为  $0.013\%$ ,表明供试品溶液室温下放置10 h内稳定。

重复性试验:精密量取同一样品(批号为170703),依法平行制备5份供试品溶液,并按拟订色谱条件进样测定。结果含量的  $RSD$  为  $0.012\%$ ,表明方法重复性良好。

加样回收试验:精密量取已知含量的供试品(批号为170703,含芦丁  $0.079\ 0$  mg/mL)共6份,分别加入一定质量浓度的芦丁对照品溶液1 mL(相当于金槐痔瘕合剂中原有质量的100%),依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样测定,记录色谱图,计算回收率。结果见表1。

表1 加样回收试验结果( $n = 6$ )

加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	$RSD$ (%)
0.057 4	0.137	101.05		
0.057 4	0.138	102.79		
0.065 4	0.145	100.92	100.27	1.24
0.065 4	0.145	100.92		
0.073 8	0.152	98.92		
0.073 8	0.153	100.27		

#### 2.2.4 样品含量测定

取3批样品(批号为170327,170531,170710),依法平行制备3份供试品溶液,按拟订色谱条件进样,测定峰面积值,计算芦丁含量。结果芦丁对照品的芦丁含量为  $0.164$  mg/mL,各批次样品的芦丁含量分别为  $0.133, 0.129, 0.132$  mg/mL ( $n = 3$ )。

### 3 讨论

本研究中分别考察了地榆不同展开剂、点样量及不同检视条件,比较了三氯甲烷-甲醇(4:1)、环己烷-乙酸乙酯-甲酸(7:5:1)展开剂的展开结果。结果显示,采用三氯甲烷-甲醇(4:1)作为展开剂时,供试品斑点拖尾严重。以紫外光  $254\text{ nm}$ ,  $365\text{ nm}$  和喷以2%三氯化铁乙醇溶液作为检视条件,喷以2%三氯化铁乙醇溶液时特征斑点最明显。对槐花薄层鉴别方法方法学考察时,同地榆考察方法,确定以乙酸乙酯-冰乙酸-水(5:1:2)作为本品最佳展开系统和喷以2%三氯化铝

溶液,  $365\text{ nm}$  观察显色斑点。

供试品提取工艺中,比较超声、加热回流和浸泡过夜3种提取方式。结果显示,采用加热回流方式提取时,芦丁测得含量略高。不同体积分数(50%,75%,100%)甲醇溶液进行提取时,芦丁的提取含量随甲醇浓度的增加而升高,当甲醇体积分数达到75%后,提取率略有下降,故选用75%甲醇溶液作为提取溶剂。芦丁成分提取率随着时间(30,60,120 min)的增加而升高,综合考虑提取效率、能源和时间成本等因素,最终选择提取时间为120 min。

综上所述,通过对医院制剂金槐痔瘕合剂的TLC鉴别和含量测定内容进行了补充,并进行了方法学考察,完善并提升了金槐痔瘕合剂的质量标准。

#### 参考文献:

- [1] 郭呈金. 研究中药槐花的药理作用及炮制[J]. 智慧健康, 2018,71(1):153-154.
- [2] 李秋红, 梁仲秋, 王继坤. 中药槐米的化学成分、炮制研究及药理作用研究进展[J]. 中国药学报, 2017,45(3):112-116.
- [3] 臧志和, 曹丽萍, 钟铃. 芦丁药理作用及制剂的研究进展[J]. 医药导报, 2007,26(7):758-760.
- [4] 林静. 芦丁的临床药理特点[J]. 湖北大学学报, 2006,25(3):84-86.
- [5] 陈红宇, 沈洪. 地榆活性成分及抗炎作用研究进展[J]. 中国医药导报, 2017,23(17):110-112.
- [6] 李瑛, 傅欣彤, 张小茜. 地榆及拳参浓缩颗粒中没食子酸的薄层色谱鉴别[J]. 首都食品与医药, 2003,10(18):52.
- [7] 张明, 蒋三元, 陈炎欢, 等. 复方槐花颗粒质量标准研究[J]. 中国药房, 2009,20(21):1647-1648.
- [8] 郑夏生, 黄颖, 徐晖, 等. 地榆药材的TLC鉴别和HPLC指纹图谱研究[J]. 中国药房, 2014,27(25):2547-2549.
- [9] 陈壮, 李耀华, 梁臣艳, 等. HPLC测定地榆配方颗粒中没食子酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013,19(1):106-108.
- [10] 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, 2015:57-59.
- [11] 姜虹, 王晓娜, 刘惠敏, 等. 槐花薄层色谱法定性鉴别[J]. 药学实践杂志, 2003,21(3):185.
- [12] 钱彦丛, 刘景东, 郝勇, 等. 槐叶和龙爪槐叶中芦丁的薄层鉴别[J]. 黑龙江医药, 2002,15(6):435-436.
- [13] 杜玉然, 贺福元, 周逸群, 等. HPLC法测定槐花药材不同部位芦丁和槲皮素含量[J]. 中国中医药信息杂志, 2012,19(12):43-44.
- [14] 李志成, 梁志云, 徐玉珍, 等. 高效液相色谱法测定金丹槐花颗粒中芦丁的含量[J]. 北方药学, 2016,13(3):5-6.
- [15] 皮文霞, 赵文望, 蔡宝昌, 等. 槐花对照提取物的制备及槐花中4个黄酮类成分的含量测定[J]. 中国药房, 2018,29(19):2652-2655.

(收稿日期:2019-06-24)