

复方石韦片的质量控制

李忠思¹, 李云霞², 商春丽²

(1. 承德医学院中药研究所 河北省中药研究与开发重点实验室, 河北 承德 067000;

2. 承德颈复康药业集团有限公司, 河北 承德 067000)

摘要:目的 建立复方石韦片的质量控制方法。方法 应用薄层色谱法对复方石韦片中的苦参、黄芪进行定性鉴别, 采用高效液相色谱法测定苦参碱。色谱柱: Kromasil KR100-5 C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈-0.025 mol/L 磷酸(1:24), 三乙胺调 pH 值至 3.5, 体积流量: 1 mL/min, 柱温: 25 ℃, 检测波长: 220 nm。结果 在薄层色谱中均能检出苦参、黄芪; 苦参碱质量浓度在 16.01~320.40 μg/mL 范围内线性关系良好($r=0.9999$), 平均加样回收率为 100.64%, RSD 为 0.87%。结论 本法简单、灵敏、结果准确, 可用于复方石韦片的质量控制。

关键词: 复方石韦片; 黄芪; 苦参; 黄芪甲苷; 苦参碱

中图分类号: R927.11

文献标识码: A

文章编号: 1674-5515(2010)03-0220-04

Quality control of Fufang Shiwei Tablets

LI Zhong-si¹, LI Yun-xia², SHANG Chun-li²

(1. Institute of Chinese Materia Medica, Chengde Medical College, Hebei Provincial Key Laboratory of Research and Development for Chinese Medicine, Chengde 067000, China; 2. Chengde JFK Pharmaceutical

Group Co., Ltd., Chengde 067000, China)

Abstract: **Objective** To establish a method for quality control of Fufang Shiwei Tablets. **Methods** TLC was applied to the identification of *Radix Sophorae flavescens* and *Radix Astragali*, and HPLC was applied to the determination of matrine. Kromasil KP100-5 C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm) column was used. The mobile phase consisted of acetonitrile-0.025 mol/L phosphoric acid (1:24), and pH of the mobile phase was adjusted to 3.5 by triethylamine. The flow rate was 1 mL/min, column temperature was 25 ℃, and the detection wavelength was 220 nm. **Results** *Radix Sophorae flavescens* and *Radix Astragali* were identified by TLC. The linear range of matrine was 16.01~320.40 μg/mL, the average recovery was 100.64%, and RSD was 0.87%. **Conclusion** The method is simple, sensitive and accurate, and it can be applied to the quality control of Fufang Shiwei Tablets.

Key words: Fufang Shiwei Tablets; *Radix Astragali*; *Radix Sophorae flavescens*; matrine; astragaloside IV

复方石韦片是承德颈复康药业集团有限公司根据《证治汇补》中石韦散独立开发研制的片剂, 为国家中药保护品种, 具有清热燥湿、利尿通淋之功效, 临床应用前景广阔^[1]。复方石韦片原为半浸膏糖衣片, 由于糖衣片存在包衣时间长、成品易吸潮褪色等缺陷, 现已改为薄膜衣片; 原质量标准中采用薄层扫描法测定复方石韦片中苦参碱的量^[2]。为更有效地

控制产品质量, 本实验改进了黄芪的薄层色谱(TLC)定性鉴别方法, 增加了苦参的 TLC 鉴别, 并采用高效液相色谱法测定苦参碱的量。

1 仪器与试剂

Agilent HP1100 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司); 苦参碱对照品(批号 110805-200306), 黄芪

作者简介 李忠思(1969—), 男, 副主任药师, 制药工程硕士, 研究方向为中药制剂现代化。

Tel: 0314-2290629, E-mail: lizhongsi691021@yahoo.com.cn

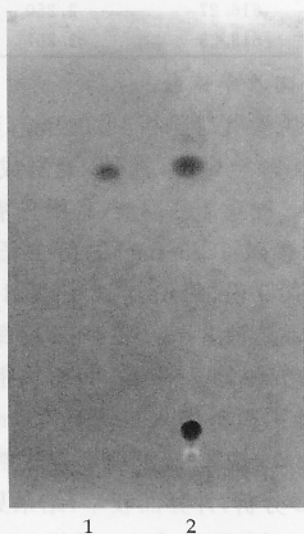
甲苷对照品(批号 110781-200613)均由中国药品生物制品检定所提供;复方石韦片由承德颈复康药业集团有限公司提供,批号 050201、050301~050303;甲醇、乙腈均为色谱纯,其余试剂均为分析纯;硅胶 G(青岛海洋化工厂)。

2 方法与结果

2.1 TLC 鉴别

2.2.1 苦参的 TLC 鉴别

取复方石韦片(批号 050201)2 片,除去薄膜衣,研细,置 100 mL 具塞锥形瓶中,加氯仿 2.5 mL,浓氨水 0.3 mL,浸泡过夜,滤过,滤液蒸干,残渣用三氯甲烷定容至 0.5 mL,作为供试品溶液。另取苦参碱加甲醇制成 0.2 mg/mL 的溶液作为对照品溶液。照 TLC 法《中国药典》2005 年版一部附录 VIB)试验,吸取上述溶液各 5 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,用甲苯-丙酮-乙醇-浓氨溶液(10:10:1:0.1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷碘化铋钾试液。供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,结果见图 1。



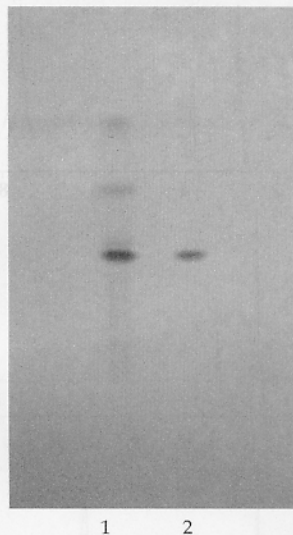
1-苦参碱对照品 2-复方石韦片供试品

图 1 苦参的 TLC 图

2.1.2 黄芪的 TLC 鉴别

取复方石韦片(批号 050201)8 片,除去薄膜衣,研碎称取 3 g,加甲醇 50 mL,回流提取 2 次,每次提取 1 h,滤过,合并滤液,回收甲醇至干,残渣加水 50 mL,加热使溶解,放冷,移至分液漏斗中,用乙醚提取 3 次(30、30、20 mL),弃去乙醚,水层挥去乙醚后,用水饱和的正丁醇提取 3 次(30、30、20 mL),合并正丁醇提取液,用正丁醇饱和的 1% 氢氧化钾溶液洗涤 3 次,每次 20 mL,继以正丁醇饱和的水洗涤

至中性,正丁醇液置水浴上蒸干,残渣加甲醇溶解,定容 2 mL,作为供试品溶液。另取黄芪甲苷对照品加甲醇制成 1 mg/mL 的溶液作为对照品溶液。照 TLC 法《中国药典》2005 年版一部附录 VIB)试验,吸取供试品溶液 10 μ L 及对照品溶液 10 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,用三氯甲烷-甲醇-水(13:7:2)下层液为展开剂,展开,取出,晾干,用 10% 硫酸乙醇液显色,在 105 $^{\circ}$ C 加热约 5 min,观察显色斑点。供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。



1-复方石韦片供试品 2-黄芪甲苷对照品

图 2 黄芪的 TLC 图

2.2 苦参碱的测定

2.2.1 色谱条件

色谱柱:Kromasil KR100-5 C_{18} 柱(4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μ m),流动相:乙腈-0.025 mol/L 磷酸(1:24),三乙胺调 pH 值至 3.5,体积流量:1 mL/min,柱温:25 $^{\circ}$ C,检测波长:220 nm;理论塔板数:按苦参碱峰计算不低于 2 000。

2.2.2 供试品溶液的制备

取复方石韦片 10 片,除去薄膜衣,研细,混匀,精密称取粉末 0.5 g,置 100 mL 具塞锥形瓶中,精密加入氯仿 40 mL,浓氨水 0.5 mL,浸泡过夜后用脱脂棉滤过,精密吸取续滤液 10 mL,过中性氧化铝柱(内径 1.5 cm,内装中性氧化铝 8 g),用氯仿 30 mL 洗脱,洗脱液 40 $^{\circ}$ C 水浴蒸干,用甲醇定容至 5 mL,摇匀,即得。

2.2.3 对照品溶液的制备

精密称取苦参碱对照品 1.6 mg 至 10 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2.4 阴性对照溶液的制备

按处方配比称取除去苦参以外的药材,与复方石韦片相同工艺制备空白样片,依“2.2.2”项下方法制备阴性对照溶液。

2.2.5 专属性试验

分别取苦参碱对照品溶液和阴性对照溶液,按照“2.2.1”项下色谱条件进行 HPLC 分析,色谱图见图 3。结果表明,阴性对照液在苦参碱相应的保留时间无吸收峰,故认为空白无干扰。

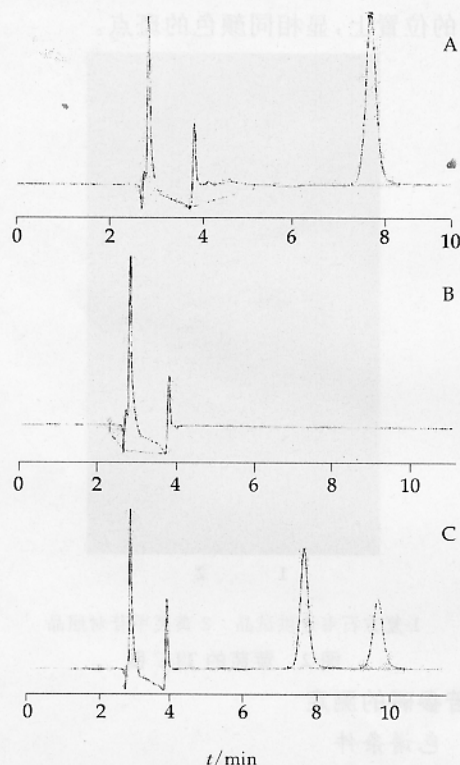


图3 苦参碱对照品(A)、复方石韦片阴性对照品(B)和复方石韦片(C)的 HPLC 图

2.2.6 线性关系考察

精密量取对照品溶液 0.1、0.2、0.5、1.0、1.5、2.0 mL 分别置 10 mL 量瓶中,用甲醇定容,分别取上述溶液 5 μ L 进样,按“2.2.1”项下色谱条件进行 HPLC 分析。以苦参碱的峰面积积分值为纵坐标(Y),苦参碱的质量浓度为横坐标(X),进行线性回归,得回归方程为 $Y = 1.3851 + 2919.9X$, $r = 0.9999$ ($n = 6$)。结果表明,苦参碱在 16.01 ~ 320.40 μ g/mL 与峰面积呈良好的线性关系。

2.2.7 精密度试验

精密吸取苦参碱对照品溶液 5 μ L,连续进样 6 次,记录每次的峰面积,结果峰面积 RSD 为 0.37% ($n = 6$),表明具有良好的精密度。

2.2.8 稳定性试验

精密吸取复方石韦片(批号 050301)供试品溶液 5 μ L,分别于 0、1、2、3、4、6、8 h 进样,连续进样 7 次,峰面积 RSD 为 0.76%,表明供试品在 8 h 内稳定。

2.2.9 重现性试验

精密称取同一批复方石韦片(批号 050303)粉末 9 份,第 1~3 份每份取 0.4 g,第 4~6 份每份取 0.5 g,第 7~9 份每份取 0.6 g,按“2.2.2”项下方法制成供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进行 HPLC 分析,测定苦参碱峰面积,计算苦参碱的量,结果见表 1。结果表明,该法重现性良好, RSD 为 0.54%。

表1 复方石韦片中苦参碱重现性试验结果

序号	取样量/g	峰面积积分值	苦参碱量/(mg·片 ⁻¹)	RSD/%
1	0.400 9	411.66	2.289	0.54
2	0.400 8	408.97	2.275	
3	0.400 8	407.17	2.263	
4	0.500 4	514.79	2.254	
5	0.500 6	515.54	2.256	
6	0.500 8	515.96	2.257	
7	0.600 9	620.60	2.263	
8	0.600 0	616.27	2.250	
9	0.600 2	618.25	2.257	

2.2.10 加样回收率试验

精密称取苦参碱对照品 14.90 mg,至 100 mL 量瓶中,用氯仿溶解至刻度,摇匀,配制成质量浓度为 0.149 0 mg/mL 的对照品溶液,备用。精密称取已知量(每片含苦参碱 1.73 mg)的复方石韦片(批号 050201)粉末,共 9 份,每份 0.25 g;第 1~3 份,每份精密加入对照品溶液 8 mL;第 4~6 份每份精密加入对照品溶液 10 mL;第 7~9 份,每份精密加入对照品溶液 12 mL,分别精密加入氯仿至 40 mL,再精密加入浓氨水 0.5 mL,按“2.2.2”项下方法制成供试品溶液,进行 HPLC 分析,计算回收率,结果见表 2。平均回收率为 100.64%,RSD 为 0.87%”

表2 加样回收率试验结果

样品中的量/ (mg·片 ⁻¹)	对照品加 入量/mg	测得量/ (mg·片 ⁻¹)	回收率/ %	平均回收 率/%	RSD/%
1.086	1.192	2.272	99.50	100.64	0.87
1.086	1.192	2.274	99.66		
1.080	1.192	2.287	101.26		
1.080	1.490	2.606	102.28		
1.080	1.490	2.575	100.34		
1.080	1.490	2.589	101.28		
1.080	1.788	2.877	100.50		
1.080	1.788	2.872	100.22		
1.080	1.788	2.886	101.01		

2.2.11 样品的测定

取3个批次的复方石韦片(批号分别为050301、050302、050303),按“2.2.2”项下方法制成供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进行HPLC分析,色谱图见图3,样品中苦参碱的量见表3,平均为2.12 mg/片。结果复方石韦片样品中苦参碱的量均符合成品质量标准,即苦参碱的量每片不少于1 mg。

表3 复方石韦片中苦参碱的量

批号	取样量/g	苦参碱的量/(mg·片 ⁻¹)
050301	0.500 6	2.11
050302	0.500 2	1.95
050303	0.500 8	2.30

3 讨论

3.1 鉴别实验的改进

复方石韦片原质量标准中只有黄芪的TLC定性鉴别,现增加了苦参的TLC定性鉴别,并且黄芪的TLC鉴别中通过对提取方法的改进和展开剂的选择,分离效果改善,斑点清晰。

3.2 样品的提取分离

在供试品溶液的制备时,考察了2种提取分离方法,即提取液过中性氧化铝柱后用氯仿15 mL洗脱,再用氯仿-甲醇(7:3)15 mL洗脱以及提取液过中性氧化铝柱后用氯仿30 mL洗脱。结果以氯仿30 mL洗脱样品达到良好的分离效果,试样进行色谱分析时无杂质干扰。

3.3 流动相的选择

在流动相的选择时,通过对乙腈-0.025 mol/L磷酸(1:24)、三乙胺调pH值3.5^[3],乙腈-0.1%磷酸(10:90)^[4],乙腈-0.02 mol/L磷酸二氢钠(60:40)^[5],甲醇-水-三乙胺(55:45:0.02)^[6]4个流动相进行考察,结果以乙腈-0.025 mol/L磷酸(1:24)、三乙胺调pH值至3.5为流动相,苦参碱得到较好的分离,因此以此作为流动相。

本实验采用TLC法对复方石韦片中的苦参、黄芪做定性鉴别,采用HPLC法测定苦参碱的量。实验结果表明该方法简便易行、结果准确、稳定性好,可用于复方石韦片的质量控制。

参考文献

- [1] 李云章. 山庄牌复方石韦片[J]. 中草药, 1997, 28(3): 190.
- [2] 董海荣, 杨颖. 薄层扫描法测定复方石韦片中苦参碱的含量[J]. 中草药, 1999, 30(1): 22-23.
- [3] 张义生, 刘亚丽. 高效液相色谱法测定妇科洗剂中苦参碱的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2004, 24(9): 580.
- [4] 易毛, 李正明, 曹红, 等. 高效液相色谱法测定磷酸苦参碱注射液中的苦参碱含量的研究[J]. 中医药学刊, 2004, 22(3): 571-572.
- [5] 吴宏丽, 王晓萍. HPLC法测定龙参颗粒中苦参碱的含量[J]. 辽宁中医杂志, 2003, 30(9): 763.
- [6] 杨文远, 杨宁莲, 王天勇. 反相高效液相色谱法同时测定洁尔阴、妇炎栓中苦参碱和氧化苦参碱[J]. 中国中药杂志, 1997, 22(12): 732-734.

(收稿日期 2010-01-14)

《现代药物与临床》杂志被确认为允许刊载 处方药广告的第一批医药专业媒体

根据国家食品药品监督管理局、国家工商行政管理局和国家新闻出版总署发布的通知,《现代药物与临床》杂志作为第一批医药专业媒体,允许发布“粉针剂、大输液类和已经正式发文明确必须凭医生处方才能销售、购买和使用的品种以及抗生素类的处方药”广告。

电话:(022) 23006823

邮箱:dc@tiprpress.com

联系人:李红珠