

结肠炎散 II 号的质量标准研究

冯 鑫, 房德敏, 王巨存

(天津医院, 天津 300211)

结肠炎散 II 号是在临床应用多年、疗效甚佳的中药制剂, 主要由青黛、儿茶、黄连、黄柏、冰片等多种中药配伍而成, 具有消肿止痛的功效, 适用于充血水肿型, 且以充血为主型的结肠炎。为更好地给临床提供质量稳定的药品, 本实验对结肠炎散 II 号中青黛、儿茶、冰片采用薄层色谱法进行定性鉴别, 并采用高效液相色谱法对主要有效成分小檗碱进行了测定, 建立了较完善的质控标准。

1 仪器与试剂

美国 Waters 高效液相色谱仪 (515HPLC 泵、486 紫外检测器、Millennium2010 色谱工作站), 日本岛津 UV-2450 紫外分光光度计。

结肠炎散 II 号由天津医院药剂科制剂室制备。靛蓝对照品 (批号 110716-200206)、靛玉红对照品 (批号 110717-200204)、儿茶对照药材 (批号 121397-200401)、盐酸小檗碱对照品 (批号 110713-200208) 均购于中国药品生物制品检定所; 冰片购自天津市中药饮片厂。所用试剂均为分析纯, 流动相用试剂为色谱纯, 水为二次重蒸水。硅胶 G 薄层板为烟台市化学工业研究所生产。

2 薄层色谱鉴别

2.1 空白对照的制备: 依照结肠炎散 II 号的处方, 按照结肠炎散 II 号的制备方法分别制备不含青黛、不含儿茶和不含冰片的对应散剂, 作为结肠炎散 II 号的空白对照。

2.2 青黛的鉴别^[1]: 取结肠炎散 II 号的粉末 0.5 g, 加入氯仿 5 mL 充分搅拌, 滤过, 滤液作为供试品溶液。另取靛蓝和靛玉红对照品, 加氯仿制成 1 mg/mL 的混合液作为对照品溶液。同时取空白对照依供试品溶液的制法制成空白对照溶液。依照薄层色谱法试验, 吸取上述溶液各 5 μL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以苯-氯仿-丙酮 (5: 4: 1) 为展开剂, 展开、取出、晾干。供试品色谱中在与对照品色谱相应的位置上显相同的蓝色和浅紫红色的斑点。空白对照色谱中无相应斑点 (图 1-A)。

2.3 冰片的鉴别^[2]: 取结肠炎散 II 号粉末 0.5 g, 加

甲醇-氯仿 (1: 1) 2 mL, 冷浸提取, 离心, 取上清液作为供试品溶液。同法制备阴性溶液, 另取冰片对照品加无水乙醇制成 1 mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。依照薄层色谱法试验, 吸取上述溶液各 5 μL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚 (30~60 °C)-醋酸乙酯-氯仿 (11: 1: 3) 为展开剂, 展开、取出、晾干, 喷以 0.5% 的磷钼酸乙醇液, 在 80 °C 加热 10 min, 结肠炎散 II 号色谱中在与对照品色谱相应的位置上显相同颜色的斑点 (图 1-B)。

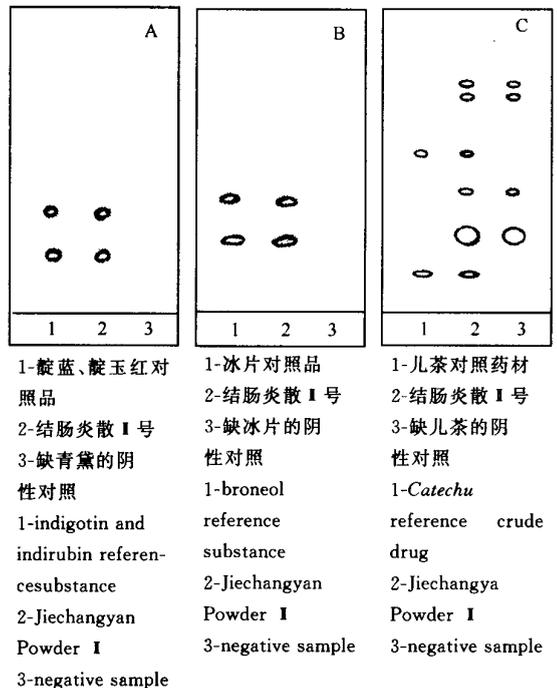


图 1 结肠炎散 II 号中青黛(A)、冰片(B)和儿茶(C)的薄层色谱图

Fig. 1 TLC Chromatograms of *Indigo Naturalis* (A), *Borneolum syntheticum* (B), and *Catecha* (C) in Jiechangyan Powder I

2.4 儿茶的鉴别^[3]: 取结肠炎散 II 号粉末约 7 g, 加入甲醇 10 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液作为供试品溶液。同法制备阴性溶液。另取儿茶对照药材 1 g, 加甲醇 10 mL, 同法制成对照药材溶液。依照薄层色谱法试验, 吸取上述溶液各 5 μL, 分别点于同

一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-甲醇-甲酸(8:2:0.08)为展开剂展开,取出、晾干,喷以含 1% 盐酸的 0.05% 对二甲胺基苯甲醛乙醇液,24 h 后日光下检视,结肠炎散 II 号色谱中在与对照品色谱相应的位置上,显相同的紫色的斑点(图 1-C)。

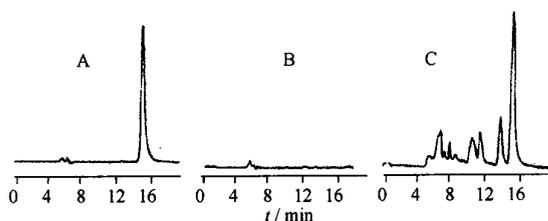
3 小檗碱的测定

3.1 色谱条件:色谱柱为 Thermo-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);预柱为 Elite-C₁₈(50 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-乙腈-0.05 mol/L KH₂PO₄(16:24:60);体积流量:0.5 mL/min;检测波长:349 nm;柱温:室温;进样量:10 μL。

3.2 对照品溶液的制备:精密称取 105 °C 干燥至恒重的盐酸小檗碱对照品 5 mg,置 50 mL 量瓶中,以甲醇溶解并稀释至刻度,作为对照品溶液。

3.3 供试品溶液的制备:精密称取供试品 0.5 g,加适量甲醇超声振荡 1 h 后,甲醇定容至 100 mL,摇匀后滤过,弃去初滤液,取 1 mL 滤液用甲醇稀释定容于 10 mL 量瓶中,备用。

3.4 阴性试验:依处方制备不含黄连和黄柏的阴性对照,按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液,进样,测定,色谱图见图 2。可见在小檗碱的测定中,阴性对照无干扰。



1-盐酸小檗碱对照品 2-阴性对照 3-样品
1-berberine hydrochloride reference substance
2-negative control 3-sample

图 2 高效液相色谱图

Fig. 2 HPLC Chromatogram

3.5 标准曲线的制备:精密量取盐酸小檗碱对照品溶液 0.1、0.2、0.5、1、1.5、2、3 mL,置于 10 mL 量瓶中,以甲醇稀释至刻度,得一系列溶液,摇匀后进样,测定,同一质量浓度测定 3 次,取其平均值。以质量浓度(C)为横坐标,峰面积(X)为纵坐标,得回归方程: $C=1.166 \times 10^{-5} X+0.4759$, $r=0.9985$,线性范围为 1~30 μg/mL。

3.6 精密度试验:取盐酸小檗碱对照品溶液,重复进样 5 次,测定峰面积,结果 RSD 为 0.56%。

3.7 稳定性试验:取同一供试品溶液,于 0、2、4、6、8、10 h 分别进样,测定峰面积并计算小檗碱的质量分数,结果其 RSD 为 0.89%,表明供试品溶液在 10

h 内是稳定的。

3.8 重现性试验:取同一批样品,依供试品溶液的制备方法平行制备 5 份,分别测定峰面积,计算小檗碱的质量分数,结果 RSD 为 1.14%。

3.9 加样回收试验:精密称取适量的结肠炎散 II 号 5 份,每份含盐酸小檗碱约 2.7 mg,加入约 2.7 mg 的盐酸小檗碱对照品,制备供试品溶液,进样测定,结果加样回收率为 100.9%,RSD 为 1.42%。

3.10 样品测定:精密称取样品 0.5 g,制备供试品溶液,选择适宜质量浓度的对照品溶液为对照,测定峰面积,外标法计算小檗碱的质量分数,结果见表 1。

表 1 结肠炎散 II 号中小檗碱的测定结果 (n=3)

Table 1 Determination of berberin in Jiechangyan Powder II (n=3)

批号	小檗碱/(mg·g ⁻¹)	RSD/%
041215	10.14	1.54
050412	10.07	1.31
051102	11.42	1.69

4 讨论

4.1 青黛的鉴别试验中,靛蓝十分不稳定,因此所用的靛蓝、靛玉红对照品应新鲜配制^[4]。且靛蓝色谱斑点在 20 min 左右会逐渐消失,靛玉红斑点也会慢慢变浅,所以在薄层板晾干后要及时观察。

4.2 测定适宜质量浓度的结肠炎散 II 号及其空白对照的紫外吸收光谱,结肠炎散 II 号及空白对照在 230、265 nm 处均有较强的紫外吸收,而在 349 nm 处空白无吸收,故将检测波长选择为 349 nm,以消除其他组分的干扰。

4.3 经过预试验考察,超声提取 30 min 不能提取完全,提取 2 h 与提取 1 h 测定结果无显著差异,因此提取时间以 1 h 为宜。

4.4 提取后的提取液过中性氧化铝柱^[5],对过柱前后的样品进行测定,虽然能去除部分杂质,但小檗碱测定结果及回收率均无显著差异,因此选择不过柱直接进样测定。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2005.
- [2] Miao M S. *Modern Utility of Chinese Materia Medica Quality Control* (现代实用中药质量控制技术) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2000.
- [3] Zhang G J. *Identification of Modern Chinese Materia Medica* (现代中药材商品通鉴) [M]. Beijing: Chinese Traditional Medical Publishing House, 2001.
- [4] Xie P S. *Ch P: TLC Atlas of Traditional Chinese Herbal Medicine* (中华人民共和国药典:中药薄层色谱彩色图集) [M]. Guangzhou: Guangdong Technology Publishing House, 1993.
- [5] Yang W Y, Xu Y. Quantity determination of Xiaotangling Capsules by HPLC [J]. *Hunan Guid J Tradit Chin Med* (湖南中医药导报), 2004, 10 (10): 43-45.