

# 白康冲剂质量标准初探

陈家鲁

**【摘要】** **目的** 为了有效的控制白康冲剂的质量,建立白康冲剂的鉴别及含量测定的质量控制方法。**方法** 采用薄层色谱法对制剂中的丹参中的丹参酮 I(石油醚—乙酸乙酯 = 8:2 为展开剂)和当归中的齐墩果酸(石油醚—氯仿—乙酸 = 10:10:2 为展开剂)分别进行定性鉴别,采用高效液相色谱法(流动相为甲醇—0.1 mol/L 磷酸溶液 = 8:2,检测波长 254 nm)对制剂中的制首乌的大黄素含量进行测定。**结果** 定性鉴别方法重现性好、专属性强;含量测定方法的进样量在 0.2537 ~ 4.06 μg 范围内线性关系良好,  $r = 0.9999$ ;加样回收率为 101.10%,  $RSD = 2.53\%$  ( $n = 6$ )。**结论** 质量控制方法简单、方法准确可靠,专属性及重现性均良好,可以作为该药的质控指标。

**【关键词】** 白康冲剂; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 大黄素

**【中图分类号】** R284.1 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2013.03.004

**Preliminary Study on Quality Control of Baikang Granule** CHEN Jia-lu. Official Hospital of Nanjing Military District, Nanjing 210016, China

Corresponding author: CHEN Jia-lu, E-mail: nj\_chenjialu@163.com

**【Abstract】 Objective** To establish a method for the quality control of baikang granule. Methods The qualitative analysis of tanshinone I in Salvia (petroleum ether-ethyl acetate = 8:2 as developing solvent) and oleanolic acid in Chinese Angelica (petroleum ether-chloroform-acetic acid = 10:10:2 as developing solvent) in baikang granule were identified by TLC. The content of emodin in Polygonum multiflorum was determined by HPLC (Methanol-0.1 mol/L phosphoric acid solution = 8:2 as mobile phase, 254 nm as the detection wavelength). **Results** The qualitative identification was specific and reproducible. The HPLC method of linear range of calibration curve was 0.2537 ~ 4.06 μg, with the relative coefficient of 0.9999, standard recovery was 101.10%, and  $RSD = 2.53\%$ . **Conclusion** The method has good specificity and reproducibility and can be used as quality control.

**【Key words】** Baikang granule; Thin layer chromatography; High performance liquid chromatography; Emodin

白康冲剂为临床科研实践中筛选出来的一组疗效好,毒副作用小的组方,使用现代制药工艺精制而成,在临床使用中取得了较好的效果,目前为南京军区机关医院院内制剂。传统中医认为白癜风可能是肝肾阴虚、神智内伤、肝气郁结、气机不畅,复感风邪,搏结于肌肤以致局部气血失和而发病,而现代医学越来越多的认为白癜风的发病机理与自身免疫有关,本处方是针对白癜风发病机理加以研究筛选而来。该处方是以制首乌 20 g、女贞子 10 g、丹参 15 g、黄芪 20 g、白癣皮 10 g 和当归 15 g

六味中药组成的复方制剂,具有滋补肝肾、活血化瘀等功效,临床上用于治疗白癜风。为有效地控制本制剂的质量,本文对白康冲剂中丹参的丹参酮 I 以及当归中的齐墩果酸采用薄层色谱法 (Thin layer chromatography, TLC) 进行定性鉴别研究,采用高效液相色谱法 (High performance liquid Chromatography, HPLC) 对白康冲剂中制首乌中的大黄素的含量测定方法进行研究,并对方法学进行考察,以制订该制剂的质控标准。现报道如下。

## 1 仪器与试药

### 1.1 仪器

Waters 高效液相色谱系统(美国 waters 公司, 2695 溶剂管理系统,四元数码梯度泵,2489 紫外—

作者单位:210016 南京军区机关医院(陈家鲁)

作者简介:陈家鲁(1965-),本科,主管药师。研究方向:医院药理学及药事管理。E-mail: nj\_chenjialu@163.com

可见检测器, Empower 3 单系统色谱工作站), Milli-Q 纯水发生器(美国 millipore 公司), 电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司), KQ-100 型超声波提取器(江苏昆山)。

### 1.2 试药

丹参酮 I 对照品、齐墩果酸对照品及大黄素对照品购自中国食品药品检定研究院; 制剂所用药材购自安徽亳州义和堂中药饮片有限公司, 制首乌由药商按《中华人民共和国药典》2010 版(一部)方法炮制; 白康冲剂(10 g/袋)为医院临床应用方, 由本院制剂室自制(批号 20120902); 甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 性状

本品为棕色或棕褐色的颗粒; 味甜, 微苦。

### 2.2 定性鉴别

丹参: 称取白康冲剂(批号 20120902)约 5 g, 加入乙醚约 50 ml, 搅拌浸提 3 小时, 滤过, 滤液蒸去溶剂, 加入乙酸乙酯 5 ml, 溶解, 滤过, 滤液为供试液; 另取丹参酮 I 对照品, 加入乙酸乙酯制成每 1 ml 含 2 mg 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法<sup>[1]</sup>试验, 吸取上述二种溶液各 5  $\mu$ l, 分别点与统一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚—乙酸乙酯(8:2)为展开剂, 展开, 取出晾干。于紫外灯下(365 nm)观察, 供试品色谱中, 在与对照品相应的位置上, 显相同的天蓝色荧光斑点。

当归: 取白康冲剂(批号 20120902)约 5 g, 加入氯仿约 50 ml, 置水浴上回流 2 小时, 滤过, 滤液蒸去溶剂, 加入乙醇 1 ml, 溶解, 滤过, 滤液为供试液; 另取齐墩果酸对照品, 加入乙醇制成每 1 ml 含 1 mg 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法试验, 吸取上述二种溶液各 20  $\mu$ l, 分别点与统一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚—氯仿—乙酸(10:10:2)为展开剂, 展开, 取出晾干。置碘缸中, 供试品色谱中, 在与对照品相应的位置上显黄色斑点。

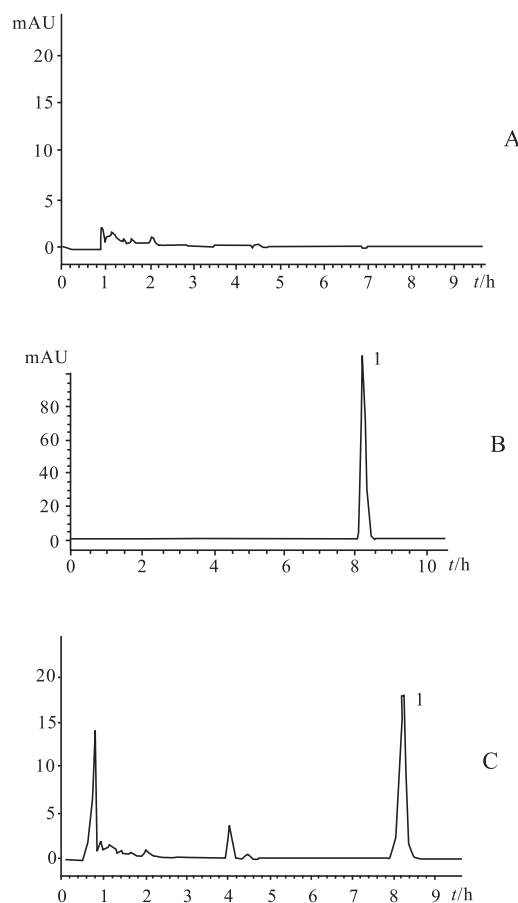
### 2.3 样品液制备

2.3.1 白康冲剂供试液制备 取白康冲剂(批号 20120902)1 袋, 精密称取, 加三氯甲烷约 80 ml, 称定, 80  $^{\circ}$ C 加热回流 60 分钟, 冷却, 用三氯甲烷补足损失的重量, 摇匀并过滤, 精密量取 50 ml, 蒸干, 残渣加流动相[甲醇—0.1 mol/L 磷酸溶液(8:2, 调节 pH=3.0)]溶解, 过 0.45  $\mu$ m 微孔滤膜后用流动相定容于 100 ml 容量瓶中, 备用<sup>[2]</sup>。

2.3.2 对照品溶液的配制 精密称取大黄素对照品约 20 mg, 用流动相溶解并定溶于 100 ml 容量瓶中, 并等比稀释成 0.203 mg/ml、0.102 mg/ml、0.0508 mg/ml、0.0254 mg/ml 及 0.0127 mg/ml 的系列浓度溶液, 备用。

### 2.4 含量测定

2.4.1 色谱柱条件及可行性考察 色谱柱为 Global Chromatography C18 (4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu$ m); 流动相为甲醇—0.1 mol/L 磷酸溶液(8:2, 调节 pH=3.0); 流速 1.0 ml/min; 检测波长 254 nm; 灵敏度 0.05 AUFS; 柱温 25  $^{\circ}$ C。在上述条件下, 样品中大黄素达基线分离, 阴性对照显示无干扰, 见图 1。



A、溶剂空白; B、对照品; C、白康冲剂样品, 其中 1 为大黄素

图 1 白康冲剂 HPLC 色谱图

2.4.2 标准曲线 量取系列浓度的对照品溶液分别进样 20  $\mu$ l, 以进样量(X)对峰面积(Y)回归, 拟合得标准曲线, 回归方程为:  $Y = 4534328.2X + 342888.7$ ,  $r = 0.9999$ , 结果表明在 0.2537 ~ 4.06  $\mu$ g 范围内线性关系良好, 见表 1。

表 1 线性关系考察结果

进样量(μg)	峰面积(mV * min)
0.2537	1445756
0.5075	2697986
1.015	5023424
2.03	9424965
4.06	18790245

2.4.3 精密度测试 分别在 0 小时、1 小时、4 小时、12 小时、24 小时内以及 1 天、2 天、3 天、4 天、5 天内取同一批次配制的大黄素对照品溶液进样,测其峰面积,分别考察日内、日间的精密度。结果显示日内、日间精密度的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)分别为 1.79% 和 2.44%,结果表明该方法具有良好的精密度。

2.4.4 稳定性考察 分别在 0 小时、1 小时、2 小时、4 小时、6 小时、12 小时精密量取对照品溶液进样,测其峰面积,计算出 RSD = 0.97%,结果表明大黄素在该甲醇—磷酸水溶液中 12 小时内稳定性良好。

2.4.5 回收率实验 精密量取已测含量的同一批号白康冲剂制剂(批号 20120902)样品 6 份,分别加入大黄素对照贮备液适量,按样品提取方法制得样液,按样品测定项下方法进行加样回收实验,测得平均回收率为 101.10%,RSD 为 2.53% (n = 6)。结果见表 2。

表 2 加样回收率试验结果

样品(μg)	对照品(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	平均回收率(%)	相对标准偏差(%)
480.9	101.5	580.3	97.93		
480.9	101.5	588.3	105.81		
480.9	253.7	738.6	101.58	101.10	2.53
480.9	253.7	729.4	97.95		
480.9	507.5	992.5	100.81		
480.9	507.5	1001.3	102.54		

### 2.5 制剂含量测定

精密量取上述的白康冲剂(批号 20120902)制剂提取液 20 μl 连续进样 5 次,测得其平均面积为 4297647 mV \* min,计算得该批号的白康冲剂中大黄素的含量为 4.361 mg/10 g。

### 3 讨论

薄层法(TLC)鉴别中成药因不受药材在成药中存在状态的限制(显微鉴别要求药材以粉末状态存在),也不受存在量的限制(颜色反应则需要一定的

有效成分浓度,浓度低,颜色反应结果不明显,易判断失误),可有效的进行定性研究。因此,TLC 与其它鉴别方法相比有其自身的优越性,在鉴别中成药方面有着广阔的前景。本文选用 TLC 法对制剂组方中丹参中的丹参酮 I 和当归中的齐墩果酸进行了定性的鉴别。

石岭等<sup>[3]</sup>报道选用正己烷、乙酸乙酯、乙醚等溶剂对丹参中的丹参酮进行浸泡提取,结果表明乙醚不仅对丹参酮溶解性大,而且对其他成分提取少,可以更高效率的提取丹参酮。参照文献,通过对溶剂的初步筛选,本文选择了乙醚作为丹参中丹参酮 I 的 TLC 检测的提取溶剂。

张秋红等<sup>[4]</sup>综述了多种药材中齐墩果酸的提取工艺,其中氯仿应用最为广泛,并有较好的效果,参照文献,通过对溶剂的初步筛选,本文选用了氯仿作为当归中齐墩果酸的 TLC 检测的提取溶剂。

蒽醌类化合物是何首乌中主要活性成分之一,临床上研究中具有多种药效。其中大黄素是蒽醌类化合物的成分之一,因此本研究以大黄素为研究对象,对白康冲剂进行含量测定方法学研究。虽然大黄素为亲脂性化合物,但用极性较小的溶剂如甲醇提取何首乌药材时,并不能完全提取大黄素;文献报道<sup>[5-6]</sup>大黄素分别用甲醇和三氯甲烷作为提取液提取时,三氯甲烷不仅可以提高提取效率,而且提出溶液中干扰较少,因此,本文选择用三氯甲烷提取制剂中的大黄素,挥干后用流动相定容制备供试液。

本文建立了白康冲剂中大黄素的含量测定方法,并对方法学进行了系统的研究,该方法为白康冲剂质量标准的建立提供了依据。

### 参 考 文 献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010; 附录 VI B 34.
- [2] 赵沈娟,黄新兰,石晶萍,等. RP-HPLC 法测定不同产地首乌藤中大黄素[J]. 中国药师, 2008, 11(9): 1063-1064.
- [3] 石岭,鱼红闪,金凤燮. 丹参药渣中丹参酮的提取研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(9): 4536-4541.
- [4] 张秋红,刘素清,熊绍根. 齐墩果酸成分薄层分析条件综述[J]. 时珍国医国药, 2000, 11(5): 467-468.
- [5] 杨洁,顾苏俊,赵夕. 升黄克痛软膏质量标准研究[J]. 科学与技术, 2008, 18(17): 4969-4972.
- [6] 张郁葱,丁德荣,龙湘俊,等. 高效液相色谱法测定虎梅冲剂中大黄素和大黄素甲醚含量研究[J]. 湖南中医学院学报, 2002, 22(2): 24-26.

(收稿日期:2013-01-31)

(本文编辑:黄凡)