

穿黄清热胶囊质量标准研究

黄全勇¹, 艾金钟², 喻志林^{3*}

(1. 江西省宜黄县卫生监督所, 江西 宜黄 344400;

2. 江西银涛药业有限公司, 江西 临川 344100; 3. 南昌大学, 南昌 330031)

【摘要】目的:建立 HPLC 测定穿黄清热胶囊中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯含量的方法。方法:色谱柱为 Diamonsil C₁₈ (2) 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 以甲醇-水(45:55)为流动相, 检测波长 254 nm。结果:穿心莲内酯与脱水穿心莲内酯的线性范围内分别为 0.027 8 μg~1.39 μg 和 0.061 4 μg~3.07 μg, 相关系数 *r* 均为 0.999 9;回收率分别为 100.43% (RSD 1.98%) 和 98.27% (RSD 1.58%)。结论:本方法稳定、重现性好, 可作为本制剂的含量测定方法。

【关键词】穿黄清热胶囊;穿心莲内酯;脱水穿心莲内酯;高效液相色谱法

【中图分类号】R284.1 【文献标识码】B 【文章编号】1005-9903(2011)09-0110-03

穿黄清热胶囊是我公司生产品种, 由穿心莲和 一枝黄花制成, 具有消炎解毒之功效, 临床用于急性

【收稿日期】20100630(008)

【第一作者】黄全勇, 学士, 主管中药师, 从事药品检验及监督, Tel:13907042911

【通讯作者】* 喻志林, 高工, 从事新药研究, Tel:13979166112

H-6) 5.06 (1H, d, *J* = 7.4 Hz, H-1'') 4.55 (1H, d, *J* = 1.0 Hz, H-1''') 3.86 (3H, s, 4'-OCH₃) 1.08 (3H, d, *J* = 6.2 Hz, CH₃-6''); ¹³C-NMR ((125 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 182.0 (C-4), 163.9 (C-2), 162.9 (C-7), 162.4 (C-4'), 161.1 (C-5), 156.9 (C-9), 128.4 (C-2', 6'), 122.7 (C-1'), 114.7 (C-3', 5'), 105.4 (C-10), 103.8 (C-3), 100.5 (C-1'''), 99.9 (C-1''), 99.6 (C-6), 94.8 (C-8), 76.2 (C-3''), 75.7 (C-5''), 73.1 (C-2''), 72.0 (C-4''), 70.7 (C-3'''), 70.3 (C-2'''), 69.6 (C-4''), 68.3 (C-5''), 66.1 (C-6''), 55.5 (4'-OCH₃), 17.7 (C-6''). 综合解析以上数据并和文献 [12] 对照, 鉴定化合物 8 为金合欢素 7-*O*-α-*L*-吡喃鼠李糖-(1→6)-β-*D*-吡喃葡萄糖苷。

【参考文献】

- [1] 中国科学院《中国植物志》编委会. 中国植物志. 第 78 卷. 第 1 分册[M]. 北京: 科学出版社, 1987:138.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986:1458.
- [3] Dong F Y, Guan L N, Zhang Y H, et al. Acylated flavone C-glycosides from *Hemistepta lyrata* [J]. J Asian Nat Prod Res 2010, 12(9):776.
- [4] Chatterjee A, Sarkar S, Saha S K. Acacetin 7-*O*-β-*D*-galactopyranoside from *Chrysanthemum indicum* [J]. Phytochemistry, 1981, 20(7):1760.
- [5] 顾瑶华, 秦民坚. 毫菊的化学成分研究[J]. 中草药, 2006, 37(12):1784.
- [6] Liu Y L, Ho D K, Cassidy J M. Isolation of potential cancer chemopreventive agents from *Eriodictyon californicum* [J]. J Nat Prod, 1992, 55(3):357.
- [7] 邓玉林, 徐志慧, 杨宾, 等. 山楂根的化学成分分离和结构鉴定[J]. 北京理工大学学报, 2006, 26(5):464.
- [8] 李飒, 张卫东. 中药爵床化学成分的研究[J]. 药学实践杂志, 1996, 14(3):151.
- [9] 李宁, 李锐, 杨世林, 等. 过山厥总黄酮的化学成分研究(1) [J]. 沈阳药科大学学报, 2004, 21(2):105.
- [10] 许婧, 李锐, 张鹏, 等. 金刚藤的黄酮类化学成分[J]. 沈阳药科大学学报, 2004, 21(6):424.
- [11] 王宇杰, 孙启时. 金钱草的化学成分研究[J]. 中国药物化学杂志, 2005, 15(6):357.
- [12] 高关华, 李华, 张莉, 等. 野菊花化学成分的研究[J]. 中药材, 2008, 31(5):682.

【责任编辑】邹晓翠

上呼吸道感染、急性扁桃腺炎、咽喉炎等热毒壅盛者。《中国药典》穿心莲药材建立了穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯的测定方法,且二者为穿黄清热胶囊中抗菌消炎的主要活性成分^[1],因此,对制剂中穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯的含量测定方法进行了研究。

1 仪器与药品

HP-1100 高效液相色谱仪(美国,HP 化学工作站),CQ-250 超声波清洗器(上海船舶电子设备研究所),AG-135 电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司)。脱水穿心莲内酯对照品(含量测定用,批号 0854-200204,中国药品生物制品检定所)、穿心莲内酯对照品(含量测定用,批号 0797-200106,中国药品生物制品检定所),甲醇(色谱纯),其他试剂为分析纯。穿黄清热胶囊(批号 0901001,0901002,0901003,0903004,0911005,1005001 江西银涛药业有限公司提供)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Diamonsil C₁₈(2)柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相 甲醇-水(45:55),流速 1 mL·min⁻¹,检测波长 254 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温室温。在上述条件下穿心莲内酯与脱水穿心莲内酯的保留时间分别为在 7,17 min,供试品溶液在上述相应位置处有相同色谱峰,阴性无干扰,见图 1。

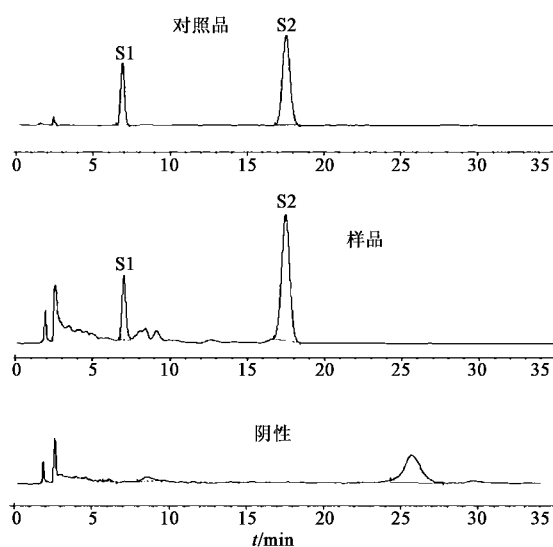


图1 穿黄清热胶囊 HPLC

A. 对照品;B. 供试品;C. 阴性

1. 穿心莲内酯;2. 脱水穿心莲内酯

2.2 供试品溶液制备 取本品 10 粒,倾出内容物,

研匀,取约 1.2 g,精密称定,置 100 mL 具塞三角瓶中,精密加入 70% 甲醇 50 mL,称定质量,超声提取 30 min,放冷,称重,并以 70% 甲醇补足减失质量,混匀,滤过,弃去初滤液,精密量取续滤液 15 mL,蒸干,残渣加甲醇 5 mL 使溶解,加在中性氧化铝柱(4 g,200~300 目,内径 1.5 cm)上,用甲醇 24 mL 洗脱,收集洗脱液,置 25 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,即得。

2.3 线性关系考察 分别精密称取穿心莲内酯对照品 6.95 mg、脱水穿心莲内酯对照品 6.14 mg,加甲醇溶解并分别定容至 10 mL 量瓶中,摇匀,作为储备液 I,II。

精密吸取储备液 I 1,2 mL,加甲醇稀释至 10 mL,即得 139,69.5 mg·L⁻¹ 溶液;再取 139 mg·L⁻¹ 2 mL,69.5 mg·L⁻¹ 1 mL 和 2 mL,分别加甲醇稀释至 10 mL,即得 27.8,13.9,6.95 mg·L⁻¹ 溶液;另取 27.8 mg·L⁻¹ 溶液 1 mL 加甲醇稀释至 10 mL,即得 2.78 mg·L⁻¹ 溶液。

精密吸取储备液 II 1,2 mL,加甲醇稀释至 10 mL,即得 122.8,61.4 mg·L⁻¹ 溶液;再取 122.8 mg·L⁻¹ 1 mL,61.4 mg·L⁻¹ 1 mL 和 2 mL,分别加甲醇稀释至 10 mL,即得 24.56,12.28,6.14 mg·L⁻¹ 溶液;另取储备液 II 1 mL 加甲醇稀释至 2 mL,即得 307 mg·L⁻¹ 溶液。

分别吸取上述各对照品溶液 10 μL,注入液相色谱仪中,按上述色谱条件测定对照品峰面积,将样品浓度与峰面积进行回归处理,回归方程分别为穿心莲内酯 $Y = 22.02X - 5.1265$,脱水穿心莲内酯 $Y = 15.18X + 8.3641$,穿心莲内酯在 0.0278~1.39 μg,脱水穿心莲内酯在 0.0614~3.07 μg 样品浓度与峰面积呈良好的线性关系, r 均为 0.9999。

2.4 稳定性及精密度试验 精密吸取 0901003 样品的供试品溶液 10 μL,按上述色谱条件,分别于 0,0.5,1.0,2.0,4.0,8.0,12.0 h,测定供试品溶液中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯峰面积值,计算供试品中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯峰面积值的相对标准差,结果 12 h 内两成分的峰面积值基本稳定,其 RSD 分别为 2.4%,2.2%。

取上述供试品连续重复进样 6 次,测定供试品中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的峰面积,结果 RSD 分别为 1.03% 和 0.70%,表明本品精密度较好。

2.5 重现性试验 取 0901003 样品 30 粒,倾出内容物,研匀,称取约 1.2 g,精密称定,共 6 份,照含量测定项下实验方法制成供试品溶液,按上述色谱条件进行测定,测定结果经数据处理,RSD 1.3%。

2.6 回收率测定 取 0901003 样品 20 粒,倾出内容物,研匀,称取约 0.6 g,精密称定,共 6 份,置 50 mL 量瓶中,精密加入对照品溶液 50 mL(内含穿心莲内酯 1.18 mg 和脱水穿心莲内酯 4.16 mg),甲醇加至近刻度,超声提取 30 min,放冷,以甲醇加至刻度,混匀,滤过,取续滤液过 0.45 μm 微孔滤膜,按色谱条件进行测定,计算回收率,结果见表 1。

表 1 穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯加样回收率测定

成分	样品中 量/mg	加入量 /mg	测得量/ mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
穿心莲 内酯	1.312 2	1.18	2.458 0	97.1	100.43%	1.98
	1.278 8		2.473 0	101.2		
	1.361 6		2.573 5	102.7		
	1.316 3		2.505 7	100.8		
	1.267 4		2.466 3	101.6		
	1.285 3		2.455 9	99.2		
脱水穿 心莲 内酯	4.334 3	4.16	8.519 3	100.6	98.27	1.58
	4.226 2		8.357 1	99.3		
	4.323 5		8.379 5	97.5		
	4.172 0		8.186 4	96.5		
	4.017 6		8.052 8	97.0		
	4.233 9		8.339 8	98.7		

2.7 样品测定 取 6 批样品,按 2.2 制备各供试品溶液,按 2.1 的色谱条件,分别进样对照品溶液和供试品溶液,按外标法计算供试品中穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯及总内酯的含量,结果见表 2。

表 2 6 批样品中内酯成分测定 mg/粒

批号	穿心莲内酯	脱水穿心莲内酯	总内酯含量
0901001	0.93	3.05	3.98
0901002	0.96	3.16	4.12
0901003	0.90	2.97	3.87
0903004	0.81	2.95	3.76
0911005	0.93	3.09	4.02
1005001	0.95	3.28	4.23

3 讨论

穿黄清热胶囊也称穿黄消炎胶囊,有文献报道仅对其脱水穿心莲内酯进行测定有些不妥^[2-3],《中

国药典》“穿心莲”含量测定项下,建立了穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯的测定方法,且根据我们的实验及文献^[4-5]发现,穿心莲药材中穿心莲内酯的含量明显高于脱水穿心莲内酯,有的相差高达 3 倍以上;但本制剂测定的结果正好与药材相反,与相关文献^[6-7]的结果相似,这说明穿心莲内酯在工艺过程中因受热而部分转化为脱水穿心莲内酯,且转化不完全,因此,以穿心莲内酯与脱水穿心莲内酯的总量来控制穿黄清热胶囊的产品质量较单独的脱水穿心莲内酯更为科学、合理。

《中国药典》“穿心莲”含量测定项下,采用浸泡 1 h 后超声处理 30 min,取续滤液中中性氧化铝柱,制备供试品溶液;且原片剂中还采用了环己烷除杂质。本次实验中,分别考察浸渍过夜后超声处理 30 min 和超声 20、30、45 min 以及用环己烷除杂质与否对含量测定的影响。结果显示超声提取 30 min 与浸泡 1 h 后超声处理 30 min 无差异,且除杂与否对含量测定无明显影响,因此,为了操作简便,减少操作误差,拟采用 70% 甲醇超声提取 30 min 并通过中性氧化铝柱制备供试品溶液。

[参考文献]

- [1] 柯铭清. 中草药有效成分理化与药理特性[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1982: 4.
- [2] 路波, 王福文, 董长萍, 等. HPLC 测定穿黄消炎胶囊中脱水穿心莲内酯的含量[J]. 中国现代中药, 2008, 10(12): 32.
- [3] 张薇, 毛学建. HPLC 测定穿黄消炎胶囊中脱水穿心莲内酯的含量[J]. 山东中医杂志, 2008, 27(7): 488.
- [4] 董海荣, 鲁静. 穿心莲及消炎利胆片中内酯类成分的含量测定[J]. 中成药, 1997, 21(1): 11.
- [5] 刘晔, 杨建云, 梁孟柏. RP-HPLC 法测定穿心莲中穿心莲内酯的含量[J]. 解放军药学学报, 2002, 18(3): 186.
- [6] 毋福海, 李光喜, 梁汉明, 等. HPLC 测定复方穿心莲片中穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯的含量[J]. 华西药理学杂志, 2004, 19(2): 133.
- [7] 海学武, 王永春. HPLC 法测定清火栀麦片中穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯的含量[J]. 西北药理学杂志, 2004, 19(6): 254.

[责任编辑 蔡仲德]