

## 肠康颗粒质量标准的研究

刘璐<sup>1</sup>, 付聪<sup>2</sup> (1. 总后丰台综合仓库药材供应站, 北京 100071; 2. 解放军 307 医院药剂科, 北京 100071)

**[摘要]** **目的** 研究建立肠康颗粒的质量标准。**方法** 采用薄层色谱法对肠康颗粒中黄连、乌梅进行定性鉴别; 采用高效液相色谱法, 测定方中君药黄连中盐酸小檗碱的含量。**结果** 在薄层色谱中能检出黄连和乌梅; 盐酸小檗碱在 5.59 ~ 178.88  $\mu\text{g}/\text{ml}$  范围内, 浓度与峰面积线性关系良好 ( $r=0.9999$ )。平均加样回收率为: 103.3% ( $RSD=1.26\%$ ,  $n=6$ )。**结论** 建立的方法对方中二味药材能准确、快速地进行定性、定量检测, 可用于肠康颗粒的质量控制。

**[关键词]** 肠康颗粒; 高效液相色谱法; 薄层色谱法; 黄连; 乌梅; 盐酸小檗碱

**[中图分类号]** R917 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2011)04-0263-03

## Study on quality control standard of changkang keli

LIU Lu<sup>1</sup>, FU Cong<sup>2</sup> (1. Medicinal materials supplies centre of the fengtai comprehensive storehouse of PLA, Beijing 100071, China; 2. Department of Pharmacy, 307th Hospital of PLA, Beijing 100071, China)

**[Abstract]** **Objective** To establish the quality standard for changkang keli. **Methods** Coptidis rhizome, mume fructus were identified by TLC. The content of berberine hydrochloride was determined by HPLC. **Results** Coptidis rhizome, mume fructus could be identified by TLC. Berberine hydrochloride showed a good linear relationship at a range of 5.59 ~ 178.88  $\mu\text{g}/\text{ml}$  ( $r=0.9999$ ). The average recovery ( $n=6$ ) was 103.3% ( $RSD=1.26\%$ ). **Conclusion** The methods were accurate and quick, which could be used for the quality control of changkang keli.

**[Key words]** changkang keli; HPLC; TLC; coptidis rhizome; mume fructus; berberine hydrochloride

肠康颗粒是由黄连、乌梅、党参、赤石脂等十一味药材组成的复方制剂, 具有健脾益肾, 涩肠止泻, 温中止痛之功效, 临床用于慢性结肠炎、溃疡性结肠炎等的治疗。为控制制剂的质量, 采用薄层色谱法鉴别了肠康颗粒中的黄连和乌梅; 采用高效液相色谱法对方中的君药黄连药材中所含的盐酸小檗碱进行了含量测定, 结果较满意, 为控制药品质量提供了依据。

### 1 仪器及药品

Agilent-1200 高效液相色谱仪; MWD 检测器 (美国 Agilent 公司)。盐酸小檗碱对照品、黄连对照药材、熊果酸对照品均由中国药品生物制品检定所提供; 硅胶 G 薄层板由青岛海洋化工厂提供; 液相用乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。肠康颗粒 (规格: 10 g/袋; 解放军 307 医院制剂室自配; 批号: 20090525、20090526、20090527)。

### 2 薄层色谱鉴别

**2.1 黄连薄层色谱鉴别**<sup>[1,2]</sup> 取本品内容物 3 g, 加甲醇 25 ml, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残

渣加乙醇 1 ml 使溶解, 作为供试品溶液。另取黄连对照药材 0.25 g, 同法制成对照药材溶液。再取盐酸小檗碱对照品, 加甲醇配成每 1 ml 含 0.5 mg 的溶液, 作为对照品溶液。按处方比例制成缺黄连的阴性对照样品, 同供试品溶液的制备方法, 制得阴性对照溶液。照薄层色谱法 (中国药典 2010 版一部附录 VI B) 试验, 吸取上述 4 种溶液各 5  $\mu\text{l}$ , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以乙酸乙酯-无水乙醇-甲酸 (7:1:2) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯 (365 nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照药材色谱和对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点, 阴性对照无干扰。见图 1。

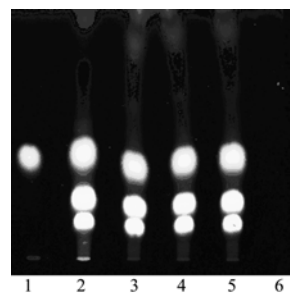


图 1 黄连薄层色谱图

1-盐酸小檗碱; 2-黄连对照药材;

3, 4- 肠康颗粒 3 批样品; 5- 阴性对照 (缺黄连)

**2.2 乌梅薄层色谱鉴别**<sup>[1,2]</sup> 取本品 10 g,加甲醇 30 ml,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 20 ml 使溶解,加乙醚振摇提取 2 次,每次 20 ml,合并乙醚液,挥干,残渣用石油醚(30~60℃)浸泡 2 次,每次 10 ml,倾去石油醚,残渣加无水乙醇 1 ml 使溶解,作为供试品溶液。另取熊果酸对照品,加无水乙醇制成每 1 ml 含 0.5 mg 的溶液,作为对照品溶液。按处方比例制成缺乌梅的阴性对照样品,同供试品溶液的制备方法,制得阴性对照溶液。照薄层色谱法(中国药典 2010 版一部附录 VI B)试验,吸取上述三种溶液各 5 μl,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以环己烷-三氯甲烷-乙酸乙酯(20:5:8)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 105℃ 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰。见图 2。

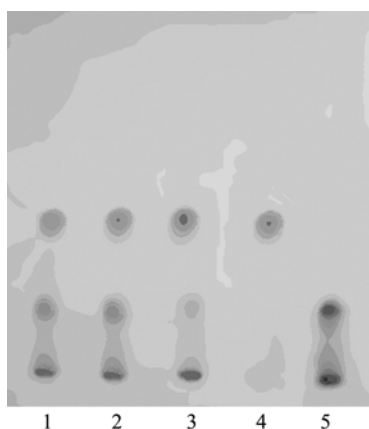


图 2 乌梅薄层色谱图  
1、2、3- 肠康颗粒 3 批样品;4-熊果酸对照品;  
5-阴性对照(缺乌梅)

**3 含量测定**<sup>[1-3]</sup>

**3.1 色谱条件** 色谱柱:Discovery® C<sub>18</sub>(5 μm,4.6 mm×250 mm)分析柱;流动相:以乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钠(磷酸调节 pH 值至 3)(30:70)为流动相;检测波长为 265 nm;柱温 40℃。

**3.2 实验方法**

**3.2.1 对照品溶液的制备** 取盐酸小檗碱对照品适量,精密称定,加盐酸-甲醇(1:100)制成每 1 ml 含 23 μg 的溶液,即得。

**3.2.2 供试品溶液的制备** 取装量差异项下的本品约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入盐酸-甲醇(1:100)25 ml,密塞,称定重量,超声处理(功率 300 W,频率 40 kHz)30 min,放冷,再称定重量,用盐酸-甲醇(1:100)补足减失的重量,摇匀,滤

过,取续滤液,即得。

**3.2.3 阴性对照溶液** 按处方比例制备缺黄连药材的阴性对照样品,按 3.2.2 项下供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。

**3.2.4 专属性试验** 按 3.1 色谱条件,分别吸取供试品溶液、对照品溶液、阴性对照溶液各 10 μl,进样,结果阴性对照在与盐酸小檗碱对照品相同保留时间处,未显示明显色谱峰,认为无干扰。供试品 HPLC 色谱图中盐酸小檗碱峰与杂质峰的分离度均应大于 1.5,理论塔板数以盐酸小檗碱峰计算应不低于 3 000。见图 3。

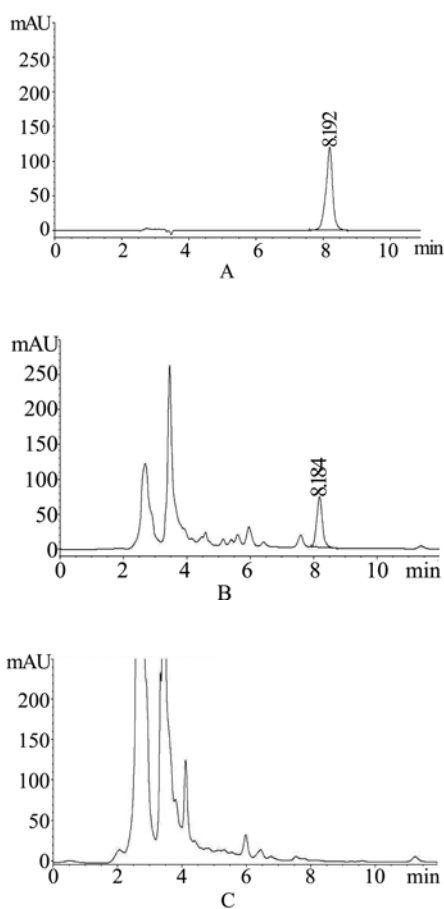


图 3 肠康颗粒 HPLC 色谱图  
A-对照品;B-肠康颗粒;C-空白对照;1-盐酸小檗碱

**3.2.5 线性范围的考察** 取盐酸小檗碱对照品适量,精密称定,加盐酸-甲醇(1:100)溶解并制成每 1 ml 含 0.223 6 mg 的溶液,作为对照品储备液。分别精密量取对照品储备溶液 0.25、0.5、1、2、4、8 ml 置于 10 ml 量瓶中,加盐酸-甲醇(1:100)至刻度,摇匀。分别精密吸取上述对照品溶液各 10 μl,注入液相色谱仪,按正文所述色谱条件测定峰面积,以进样浓度(μg/ml)为横坐标(X),峰面积为纵坐标

(下转第 280 页)

- [2] 王宏军, 吴国娟, 李焕荣, 等. 金银花中绿原酸提取方法的筛选及其抑菌作用[J]. 北京农学院学报, 2003, 18(4): 262.
- [3] 胡美芳, 宋秋华, 王波. 高效液相色谱法测定清肺止咳颗粒中绿原酸的含量[J]. 中国药业, 2009, 18(20): 34.
- [4] 邱华荣, 田吉, 冯文学, 等. 青银注射液中绿原酸与樟脑的含量测定[J]. 中成药, 2004, 26(8): 621.
- [收稿日期] 2010-07-09  
[修回日期] 2011-03-04

(上接第264页)

(Y), 绘制标准曲线, 计算回归方程。回归方程为  $Y = -19.85 + 37.17X$ ,  $r = 0.9999$  ( $n = 6$ )。结果表明: 盐酸小檗碱在 5.59 ~ 178.88  $\mu\text{g/ml}$  范围内有良好的线性关系。

**3.2.6 样品溶液稳定性试验** 精密称取供试品(批号 20090525) 0.5026 g, 照上述方法制备供试品溶液, 精密吸取 10  $\mu\text{l}$ , 分别于配制后 0、2、4、8、12、16 h 依法测定, 盐酸小檗碱峰面积的 RSD 为 0.57%。结果表明, 供试品溶液在 16 h 内较稳定。

**3.2.7 重复性试验** 取同一批号肠康颗粒样品(批号 20090525) 6 份, 按“供试品溶液”项下方法操作, 结果盐酸小檗碱的平均含量为 12.61 mg/袋; RSD = 0.52% ( $n = 6$ ); 表明此法重复性良好。

**3.2.8 加样回收率实验** 取已知含量的肠康颗粒样品 0.25 g (批号 20090525, 盐酸小檗碱含量为 1.261 mg/g), 按 1:1 的比例分别加入对照品适量, 按供试品溶液的制备方法制备供试液, 平行试验 6 份, 按上述色谱条件, 测定其含量, 结果其平均回收率为 103.32%, RSD 为 1.26%。回收率试验的测定结果见表 1。

表 1 肠康颗粒中黄连的加样回收率试验结果

称样量(g)	相当盐酸小檗碱的量(mg)	加入盐酸小檗碱的量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均值(%)	RSD(%)
0.2501	0.3154	0.3410	0.6665	102.96		
0.2564	0.3233	0.3410	0.6797	104.52		
0.2498	0.3150	0.3410	0.6686	103.70	103.32	1.26
0.2491	0.3141	0.3410	0.6583	100.94		
0.2575	0.3247	0.3410	0.6806	104.37		
0.2538	0.3200	0.3410	0.6727	103.43		

**3.2.9 样品测定** 取肠康颗粒各批次样品, 按上述方法测定, 计算盐酸小檗碱含量, 结果见表 2。

表 2 肠康颗粒中盐酸小檗碱含量测定结果 ( $n = 2$ )

批号	盐酸小檗碱含量(mg/袋)
20090525	12.61
20090526	11.34
20090527	12.29

由于测定样品的批次有限, 根据测定结果, 暂定本品每袋含黄连以盐酸小檗碱( $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{ClNO}_4$ )计, 不得少于 9.0 mg。

#### 4 讨论

**4.1 提取溶剂与提取方法考察** 在样品的前提取处理中<sup>[1]</sup>, 对稀乙醇、乙醇、甲醇、盐酸-甲醇(1:100)的考察结果表明, 盐酸-甲醇(1:100)作为提取溶剂提取率最高。对冷浸法、热回流提取法、超声处理法的考察结果表明, 超声处理法效果较理想。此外, 对超声处理的时间进行了考察, 结果超声处理 30 min, 即将有效成分基本提取完全。

**4.2 色谱条件的选择** 选择  $\text{C}_{18}$  色谱柱, 比较了不

同商品类型的色谱柱 Agilent ZORBAX SB- $\text{C}_{18}$  (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) 分析柱、SHIMADZU VP-ODS (250 mm $\times$ 4.6 mm; 5  $\mu\text{m}$ ) 分析柱、及 Agilent ZORBAX EXTEND- $\text{C}_{18}$  (250 mm $\times$ 4.6 mm; 5  $\mu\text{m}$ ) 分析柱, 结果上述  $\text{C}_{18}$  分析柱对盐酸小檗碱的分离效果均较好<sup>[1-3]</sup>。以乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钠溶液(用磷酸调节 pH 至 3) (30:70) 为流动相, 可同时分离多种小檗碱型生物碱类化合物, 达到了较满意的分离效果。

**4.3 检测波长的选择** 在实验中, 对盐酸小檗碱对照品<sup>[2]</sup>溶液, 在 200 ~ 400 nm 分别进行光谱扫描, 在 265 nm 处有最大吸收, 测定灵敏度最高, 故选择其为测定波长。

#### 【参考文献】

- [1] 中国药典 2010 版. 一部[S]. 2005: 54, 213.
- [2] 王宝琴. 中成药质量标准与标准物质研究[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1994: 118.
- [3] 安登魁. 现代药物分析选论[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2000: 781.

[收稿日期] 2010-09-26  
[修回日期] 2011-01-19