

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2018.10.08

仔泻康口服液的质量标准研究

雒利蓉^{1,2}, 王 慧¹, 崔东安¹, 王富河¹, 王胜义^{1*}

(1. 中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所, 兰州 730000; 2. 新疆农业大学动物医学院, 乌鲁木齐 830000)

[收稿日期] 2018-05-10 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2018) 10-0057-09 [中图分类号] S853.7

[摘要] 为了研究仔泻康口服液质量标准, 以便控制产品质量, 采用薄层色谱法(TLC)对制剂中黄芪、黄芩、黄连、白头翁进行定性鉴别; 用高效液相色谱(HPLC)法对制剂中黄芩苷、盐酸小檗碱进行含量测定。结果 TLC 鉴别分离度好, 简单、灵敏、专属性强。黄芩苷线性范围在 0.12~0.75 μg ($R^2 = 0.9975$), 平均回收率为 97%, $RSD = 1.46\%$ ($n = 6$); 盐酸小檗碱线性范围在 0.125~0.75 μg ($R^2 = 0.9929$), 平均回收率为 93.33%, RSD 为 2.21% ($n = 6$)。对黄芪、黄芩、黄连的定性鉴别及黄芩苷、盐酸小檗碱的含量测定, 方法简单、准确、可靠, 所建的标准可用于仔泻康口服液的质量控制。

[关键词] 仔泻康口服液; 薄层鉴别; 含量测定; 质量控制

Study on the Quality Standard of Zixiekang Oral liquid

LUO Li-rong^{1,2}, WANG Hui¹, CUI Dong-an¹, WANG Fu-he¹, WANG Sheng-yi^{1*}

(1. Lanzhou Institute of animal husbandry and veterinary medicine, lanzhou 730000, China;

2. Institute of animal medicine, Xinjiang Agricultural University, urumqi 830000, China)

Corresponding author: WANG Sheng-yi, E-mail: wangshengyi@caas.cn

Abstract: To study a quality control standard for Zixiekang oral liquid, to control the quality of the product. Radix astragalos, Radix scutellariae, Rhizoma coptidis, Radix pulsatillae were identified by TLC. Content of Berberine hydrochloride and Baicalin were determined by HPLC. The results showed that the TLC identification was good reproducibility, simple, sensitivity and highly specific. The calibration curve of Baicalin was linear in the range of 0.12 to 0.75 μg ($R^2 = 0.9975$). The average recovery rate was 97%, $RSD = 1.46\%$ ($n = 6$). The calibration curve of Berberine hydrochloride was linear in the range of 0.125 to 0.75 μg ($R^2 = 0.9929$). The average recovery rate was 93.33%, $RSD = 2.21\%$ ($n = 6$). The quality of the preparation could be controlled by qualitative identification of Radix astragalos, Radix scutellariae, Rhizoma coptidis, Radix pulsatillae are simple, accurate and reliable. The established standard can be used for the quality control of Zixiekang oral liquid.

Key words: Zixiekang oral liquid; TLC; HPLC; quality criteria

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31502113); 公益性行业(农业)专项项目(20130304-17); 中国农业科学院科技创新工程项目(CAAS-ASTIP-2014-LIHPS-03)

作者简介: 雒利蓉, 硕士研究生, 从事基础兽医学方向研究。

通讯作者: 王胜义。E-mail: wangshengyi@caas.cn

仔泻康口服液的研究是针对仔猪湿热性腹泻运用传统中兽医学理论,结合现代中药研究成果,通过药物筛选、科学组方研制出的中兽药制剂^[1]。该方剂由黄芪、黄芩、黄连、白头翁、等药物组成,黄芪有入脾、肺经,补气升阳,固表止汗,托毒生肌,利水消肿的作用;黄芩有清热燥湿药,解热,镇静,利尿,缓解肠管痉挛等作用;黄连有清化湿热而固大肠的作用;白头翁有清热解毒,凉血止痢,专清大肠血热而治腹泻的作用。通过临床试验验证,具有清热解毒,燥湿止痢等功效,且疗效显著。为了研究该制剂的质量,确定了黄芪、黄芩、黄连、白头翁的 TLC 鉴别方法;建立了 HPLC 测定仔泻康口服液中黄芩苷、盐酸小檗碱的含量测定方法。

1 材料

1.1 仪器 SP-20E 型全自动点样仪购自上海科哲生化科技有限公司,Good See -20 E 薄层色谱成像系统购自上海科哲生化科技有限公司,KH5200 型超声波清洗购自昆山禾创超声仪器有限公司,HHS-4 型恒温水浴购自北京科伟永兴仪器有限公司,AL104 电子天平购自梅特勒-托利多有限公司,戴安 U-3000 购自戴安中国有限公司,超纯水制备仪购自利康有限公司,ME235S 型微量分析天平购自 Sartorius 公司,SapphireC18 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm)购自美国赛分科技有限公司,Thermo 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm)购自美国安捷伦科技有限公司。

1.2 药品 仔泻康口服液由中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所研制,每 1 mL 相当于原生药材 1 g;黄芩苷标准品(批号:110715~201016),盐酸小檗碱标准品(批号:110713~201212)、黄芪甲苷标准品(批号:110781~201616)、白头翁皂苷 B4 标准品(批号:160810)、黄芩苷对照药材(批号:120955~201309)、黄连对照药材(批号:120913~201310)、黄芪对照药材(批号:120974~201612)和白头翁对照药材(批号:160901)除白头翁对照药材和白头翁皂苷 B4 标准品购于北京北纳创联生物技术研究院,其余均购于中国食品药品检定研究院,硅胶

GF254 板购于青岛海洋化工厂;甲醇(Fisher Scientific,色谱纯),乙腈(Fisher Scientific,色谱纯),其他试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 黄芩 TLC 鉴别 取本品 30 mL,加稀盐酸调 pH 至 2,用醋酸乙酯震荡提取 2 次,每次 40 mL,合并醋酸乙酯液,水浴蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液;按处方比例,取除黄芩外的其他药味,按照供试品溶液制备工艺和前处理方法,制成阴性对照溶液;取黄芩对照药材 1 g,加乙酸乙酯-甲醇(3:1)的混合溶液 60 mL,加热回流 30 min,放冷,过滤,滤液蒸干,残渣加甲醇 5 mL 使溶解,取上清液作为对照药材溶液。再取黄芩苷对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 2 mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2015 版一部附录 VIB)试验^[2],吸取上述溶液各 1 μL,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上,以醋酸丁酯-甲酸-水(7:4:3)的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 2%三氯化铁乙醇溶液显色。

2.2 黄芪 TLC 鉴别 取本品 30 mL,用以水饱和的正丁醇提取 2 次,每次 30 mL,合并正丁醇液加 1%氢氧化钠溶液洗涤 2 次,每次 20 mL,取正丁醇液用以正丁醇饱和的水洗至中性。取正丁醇液蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。按处方比例,取除黄芪外的其他药味,按照供试品溶液制备工艺和前处理方法,制成阴性对照溶液;取黄芪对照药材 1 g,加甲醇 30 mL,加热回流 1 h,放冷,过滤,滤液蒸干,残渣加水 30 mL 使溶解,同法制成对照药材溶液。再取黄芪甲苷对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2015 版一部附录 VIB)试验^[2],吸取上述溶液各 5 μL,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上,以氯仿-甲醇-水(13:6:2)10 °C 以下放置的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干。喷以 10%的硫酸乙醇试液,在 105 °C 加热至斑点显色清晰。

2.3 黄连 TLC 鉴别 取样品 15 mL,用三氯甲烷振荡提取 2 次,每次 15 mL,合并提取液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL,作为供试品溶液。按处方比例,取除黄连外的其他药味,按照供试品溶液制备工艺和前处理方法,制成阴性对照溶液;取对照药材 0.5 mg,加水 30 mL,煎煮 2 次,每次 30 min,合并煎煮液,浓缩至近干,加甲醇 2 mL 使溶解,作为对照药材溶液。再取盐酸小檗碱对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 2015 版一部附录 VI B)试验^[2],分别吸取供试品溶液和阴性对照溶液各 5 μ L,对照药材和对照品溶液各 1 μ L,分别点于同一以羧甲基纤维钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯-异丙醇-甲醇-水-三乙胺(3:3.5:1:1.5:0.5:1)为展开剂,置氨蒸汽饱和的展开缸内,预饱和 30 min,展开,取出,晾干,置 365 nm 紫外灯光下检视。

2.4 白头翁 TLC 鉴别 取本品 15 mL,加 70%乙醇 30 mL,超声 30 min,冷却,过滤。1500 r/min 离心 10 min,将上层清液置蒸发皿中水浴挥干,放冷,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作供试品溶液。按处方比例,取除白头翁外的其他药味,按照供试品溶液制备工艺和前处理方法,制成阴性对照溶液;取白头翁对照药材 1 g,加 70%乙醇 20 mL,超声 30 min,冷却,过滤,滤液蒸干,残渣加甲醇 2 mL 使溶解,作为对照药材溶液。再取白头翁皂苷 B4 对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液备用。照薄层色谱法(中国药典 2015 版一部附录 VI B)试验^[2],取上述各溶液 10 μ L,分别点于同一以羧甲基纤维钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上,以氯仿-甲醇-水(7:3:0.5)下层溶液为展开剂,预饱和 10 min。展距为 7.0 cm。取出,晾干,置于紫外光灯(365 nm)下检视,喷以 10%硫酸水溶液,加热至显色。

2.5 黄芩苷含量的测定

2.5.1 色谱条件 Thermo 色谱柱(4.6 \times 250 mm, 5 μ m,美国安捷伦科技有限公司)以甲醇-0.2%磷酸溶液(50:50)为流动相^[3-5],流速 1 mL/min,柱

温 30 $^{\circ}$ C,检测波长 276 nm。

2.5.2 样品溶液的制备 标准品:精确量取黄芩苷标准品 6.25 mg,置 25 mL 容量瓶中,加甲醇定容,浓度为 250 μ g/mL,作为母液,分别量取母液 1.25、2.5、3.75、5、6.25、7.5 mL 置于 25 mL 容量瓶中,并用甲醇溶解作为标准品溶液。供试品:精确量取仔泻康口服液 1 mL,至于 25 mL 容量瓶中,加适量甲醇,超声处理 30 min,放置室温,加甲醇定容,振荡、静置,取上清液经 0.45 μ m 滤过,取续滤液即得。阴性对照:取不含黄芩的处方药材,制备不含黄芩的阴性对照样品,按供试品溶液制备方法配制阴性对照品溶液。

2.5.3 系统适应性试验 分别吸取仔泻康口服液、标准品溶液、阴性对照溶液各 10 μ L 进样,并记录色谱峰。

2.5.4 线性关系考察 精密称取浓度为 12.5、25、37.5、50、62.5、75 μ g/mL 的黄芩苷标准品溶液 10 μ L,按上述色谱条件注入色谱仪,测定峰面积。以黄芩苷进样含量 X 为横坐标,以峰面积 Y 为纵坐标,进行线性回归,回执标准曲线,求回归方程。

2.5.5 精密度试验 吸取浓度为 25 μ g/mL 的标准品溶液 10 μ L,重复进样 6 次,记录峰面积,计算精密度 RSD 值。

2.5.6 重复性试验 精密称取样品 6 份,每份 1 mL,按仔泻康口服液供试品方法制备,各进样 10 μ L,检测并记录峰面积。

2.5.7 日间稳定性试验 精密称取样品 1 mL,按仔泻康口服液供试品方法制备,在制备后 0、2、4、8、12、24 h 各进样 10 μ L,测定峰面积。

2.5.8 加样回收率试验 精密称取已知含量的样品 6 份,每份 1 mL 置于 25 mL 容量瓶中,精密加入已知浓度的黄芩苷溶液 4 mL,按仔泻康口服液供试品制备,进样 10 μ L,测定峰面积,计算加样回收率。

2.5.9 样品测定试验 取样品 3 批,各批次取平行样品 3 份,按仔泻康口服液供试品方法制备,每份样品进样量 10 μ L,记录峰面积并计算出样品中黄芩苷的含量。

2.6 盐酸小檗碱含量的测定

2.6.1 色谱条件 SapphireC18 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm, 美国赛分科技有限公司)以乙腈-水(47:53)(1000 mL 水中含磷酸二氢钾 3.4 g 与十二烷基磺酸钠 1.7 g)为流动相^[6-8], 流速 1 mL/min, 柱温 30 ℃, 检测波长 347 nm。

2.6.2 样品溶液的制备 标准品: 精确量取盐酸小檗碱标准品 625 μg, 置 25 mL 容量瓶中, 加甲醇定容, 浓度为 25 μg/mL, 作为标准品溶液。供试品: 精确量取仔泻康口服液 1 mL, 至于 25 mL 容量瓶中, 加适量甲醇, 超声处理 30 min, 放置室温, 加甲醇定容, 振摇、静置, 取上清微孔膜(0.45 μm)滤过, 取续滤液即得。阴性对照: 取不含黄连的处方药材, 制备不含黄连的阴性对照样品, 按供试品溶液制备方法配制阴性对照品溶液。

2.6.3 系统适应性试验 分别吸取仔泻康口服液、标准品溶液、阴性对照溶液各 10 μL 进样, 并记录色谱峰。

2.6.4 线性关系考察 精密称取浓度为 25 μg/mL 的盐酸小檗碱标准品溶液 10 μL, 按上述色谱条件注入色谱仪, 测定峰面积。以盐酸小檗碱进样含量 X 为横坐标, 以峰面积 Y 为纵坐标, 进行线性回归, 绘画标准曲线, 求回归方程。

2.6.5 精密度试验 吸取浓度为 25 μg/mL 的标准品溶液 10 μL, 重复进样 6 次, 记录峰面积, 计算精密度 RSD 值。

2.6.6 重复性试验 精密称取样品 6 份, 每份 1 mL, 按仔泻康口服液供试品方法制备, 各进样 10 μL, 检测并记录峰面积。

2.6.7 日间稳定性试验 精密称取样品 1 mL, 按仔泻康口服液供试品方法制备, 在制备后 0、2、4、8、12、24 h 各进样 10 μL, 测定峰面积。

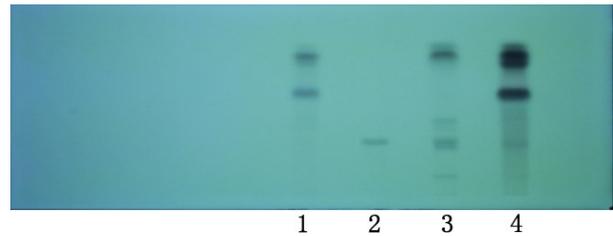
2.6.8 加样回收率试验 精密称取已知含量的样品 6 份, 每份 1 mL 置于 25 mL 容量瓶中, 精密加入已知浓度的盐酸小檗碱溶液 1 mL, 按仔泻康口服液供试品制备, 进样 10 μL, 测定峰面积, 计算加样回收率。

2.6.9 样品测定试验 取样品 3 批, 各批次取平行

样品 3 份, 按仔泻康口服液供试品方法制备, 每份样品进样量 10 μL, 记录峰面积并计算出样品中盐酸小檗碱的含量。

3 结果与分析

3.1 黄芩 TLC 鉴别 试验结果见图 1, 供试品色谱中, 在与对照药材色谱、对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 斑点清晰, 阴性对照无相应的斑点, 无干扰, 方法具有专一性。

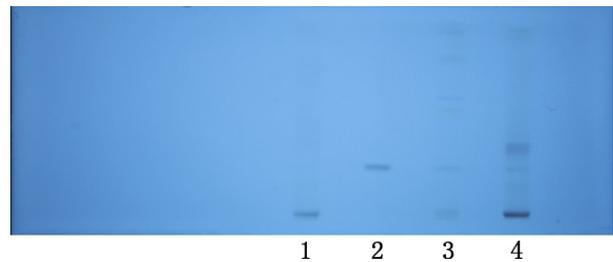


1. 黄芩阴性; 2. 黄芩对照品; 3. 黄芩供试样品; 4. 黄芩对照药材

图 1 黄芩的 TLC 图谱

Fig 1 TLC map of Radix scutellariae

3.2 黄芪 TLC 鉴别 试验结果见图 2, 供试品色谱中, 在与对照药材色谱、黄芪甲苷对照品色谱相应位置上, 显相同颜色的斑点, 斑点清晰, 阴性对照无相应的斑点, 阴性对照无干扰, 方法具有专一性。



1. 黄芪阴性对照; 2. 黄芪对照品; 3. 黄芪供试样品; 4. 黄芪对照药材

图 2 黄芪的 TLC 图谱

Fig 2 TLC map of Radix astragalos

3.3 黄连 TLC 鉴别 试验结果见图 3, 供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应位置上, 显相同颜色的荧光斑点; 在与盐酸小檗碱对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点, 斑点清晰, 阴性对照液无相应的斑点, 阴性对照无干扰, 方法具有专一性。

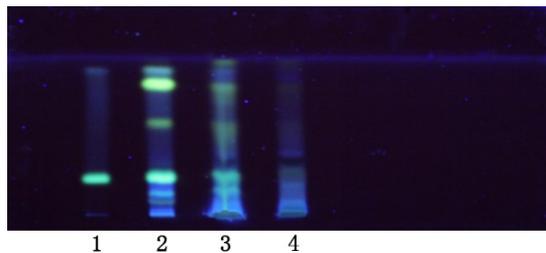
3.4 白头翁 TLC 鉴别 试验结果见图 4, 供试品色谱中, 在与对照药材色谱、白头翁皂苷 B4 对照品色谱相应位置上, 显相同颜色的斑点, 斑点清晰, 阴性对照无相应的斑点, 阴性对照无干扰, 方法具有专一性。

3.5 黄芩苷含量测定

3.5.1 系统适应性试验 样品中黄芩苷与相邻杂质峰分离良好, 阴性对照在黄芩苷出峰时间无色谱峰, 检测无干扰, 如图 5 所示。

3.5.2 线性关系考察 黄芩苷线性回归直线回归方程: $Y = 1.6681X - 2.4419$, $R^2 = 0.9975$ (以黄芩苷进样浓度为横坐标, 以峰面积为纵坐标)。结果表明: 黄芩苷峰面积与浓度在 0.12~0.75 μg 范围内呈现良好的线性关系。

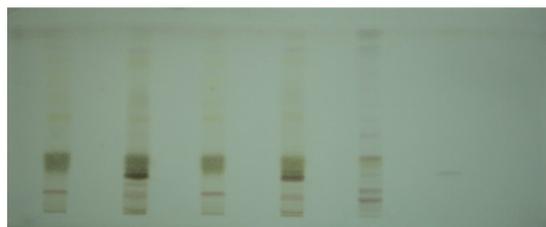
3.5.3 精密度试验 仔泻康口服液中黄芩苷含量的 RSD 为 1.37% ($n = 6$), 表明仪器精密度良好, 如表 1 所示。



1. 黄连对照品; 2. 黄连对照药材; 3. 黄连供试样品; 4. 黄连阴性对照

图 3 黄连的 TLC 图谱

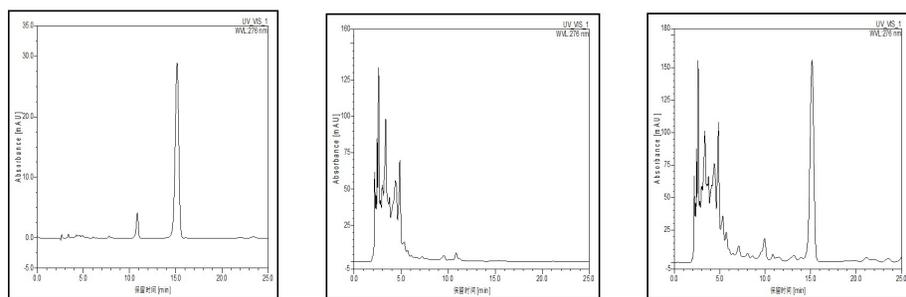
Fig 3 TLC map of Rhizoma coptidis



1. 白头翁阴性对照; 2. 白头翁供试样品; 3. 白头翁阴性; 4. 白头翁供试样品; 5. 白头翁对照药材; 6. 白头翁对照品

图 4 白头翁的 TLC 图谱

Fig 4 TLC map of Radix puLsatillae



A. 黄芩苷对照品

B. 仔泻康口服液阴性供试品

C. 仔泻康口服液供试品

图 5 黄芩苷的 HPLC 色谱图

Fig 5 HPLC chromatogram map of Baicalin

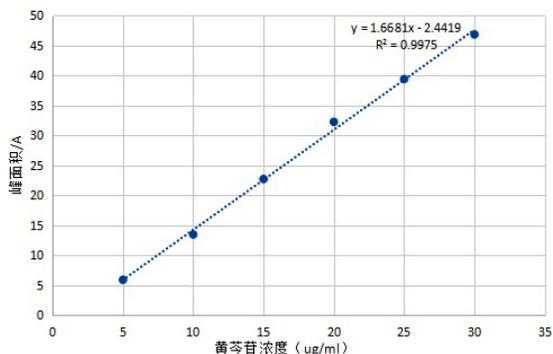


图 6 黄芩苷线性关系图

Fig 6 Calibration curve of baicalin

表 1 黄芩苷精密度试验结果表

Tab 1 Results of precision test of baicalin

编号	峰面积	RSD/%
1	13.0443	1.37
2	13.0317	
3	12.9509	
4	12.9648	
5	12.6517	
6	12.6763	

3.5.4 重复性试验 仔泻康口服液中测定的黄芩苷含量结果如表 2 所示,黄芩苷峰面积 *RSD* 值为 2.74%,表明该检测方法重复性良好。

表 2 黄芩苷重复性试验结果表

Tab 2 Results of reproducibility test of baicalin

编号	峰面积	<i>RSD</i> /%
1	74.3200	2.74
2	75.6759	
3	75.0416	
4	74.9388	
5	71.1800	
6	77.4122	

3.5.5 日间稳定性试验 仔泻康口服液在制备后 0,2,4,8,12,24 分别测定黄芩苷,黄芩苷峰面积 *RSD* 值为 0.54%,表明黄芩苷在仔泻康口服液中具有良好的稳定性,结果如表 3 所示。

3.5.6 加样回收率试验 6 份已知黄芩苷含量的样品加样回收率测定结果如表 4,平均回收率 97%,*RSD* 为 2.3%。

表 4 黄芩苷加样回收率试验结果表

Tab 4 Results coefficient of recovery test of baicalin

编号	样品/mg	加样/mg	测得/mg	回收率/%	平均回收率/%	<i>RSD</i> /%
1	3.474	0.1	3.571	97	97	1.46
2	3.474	0.1	3.572	98		
3	3.474	0.1	3.569	95		
4	3.474	0.1	3.573	99		
5	3.474	0.1	3.570	96		
6	3.474	0.1	3.571	97		

表 5 黄芩苷含量测定结果表

Tab 5 Contents of baicalin

批号	黄芩苷含量/(mg·mL ⁻¹)	<i>RSD</i> /%
1	3.489	1.19
2	3.570	
3	3.510	

表 3 黄芩苷日间稳定性试验结果表

Tab 3 Results of stability test of baicalin

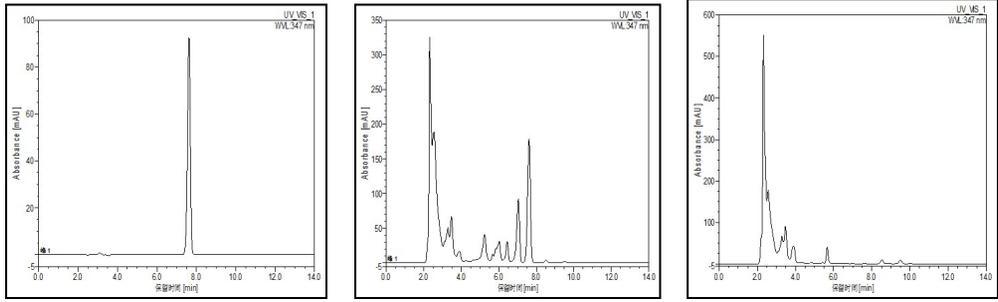
时间/h	峰面积	<i>RSD</i> /%
0	76.6953	0.54
2	75.8629	
4	75.7723	
8	76.0110	
12	75.6679	
24	75.5321	

3.5.7 样品测定试验 经上述方法测定,第一批黄芩苷的平均含量为 3.489 mg/mL,第二批黄芩苷的平均含量为 3.570 mg/mL,第三批黄芩苷的平均含量为 3.510 mg/mL,*RSD* = 1.19%,说明不同批号的仔泻康口服液中黄芩苷的含量稳定。

3.6 盐酸小檗碱含量测定

3.6.1 系统适应性试验 样品中盐酸小檗碱与相邻杂质峰分离良好,阴性对照在盐酸小檗碱出峰时间无色谱峰,检测无干扰,如图 7 所示。

3.6.2 线性关系考察 盐酸小檗碱线性回归直线回归方程: $Y = 1.7058X - 1.9246$, $R^2 = 0.9929$ (以盐酸小檗碱进样浓度为横坐标,以峰面积为纵坐标)。结果表明:盐酸小檗碱峰面积与浓度在 0.125~0.75 μg 范围内呈现良好的线性关系。



A. 盐酸小檗碱对照品 B. 仔泻康口服液供试品 C. 仔泻康口服液阴性供试品

图 7 盐酸小檗碱 HPLC 色谱图

Fig 7 HPLC chromatogram map of Berberine hydrochloride

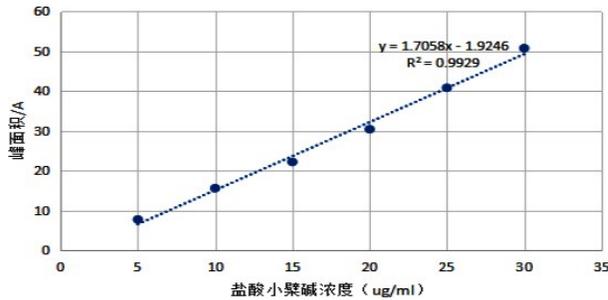


图 8 盐酸小檗碱线性关系图

Fig 8 Calibration curve of berberine hydrochloride

表 7 盐酸小檗碱重复性试验结果表

Tab 7 Results of reproducibility test of berberin hydrochloride

编号	峰面积	RSD/%
1	33.9189	1.05
2	33.3093	
3	33.7369	
4	33.0800	
5	33.8186	
6	33.2339	

3.6.3 精密度试验 仔泻康口服液中盐酸小檗碱含量的 RSD 为 0.12 % (n = 6), 表明仪器精密度良好, 如表 6 所示。

表 6 盐酸小檗碱精密度试验结果表

Tab 6 Results of precision test of berberine hydrochloride

编号	峰面积	RSD/%
1	15.6227	0.12
2	15.5958	
3	15.5882	
4	15.5838	
5	15.6010	
6	15.5690	

3.6.5 日间稳定性试验 仔泻康口服液在制备后 0、2、4、8、12、24 h 分别测定盐酸小檗碱, 盐酸小檗碱峰面积 RSD 值为 0.56 %, 表明盐酸小檗碱在仔泻康口服液中具有良好的稳定性, 结果如表 8 所示。

表 8 盐酸小檗碱日间稳定性试验结果表

Tab 8 Results of stability test of berberin hydrochloride

时间/h	峰面积	RSD/%
0	33.3453	0.56
2	32.9718	
4	32.9133	
8	32.8922	
12	32.8523	
24	33.0872	

3.6.4 重复性试验 仔泻康口服液中测定的盐酸小檗碱含量结果如表 7 所示, 盐酸小檗碱峰面积 RSD 值为 1.05 %, 表明该检测方法重复性良好。

3.6.6 加样回收率试验 6 份已知盐酸小檗碱含量的样品加样回收率测定结果如表 9, 平均回收率 93.33 %, RSD 为 2.21 %。

表 9 盐酸小檗碱加样回收率试验结果表

Tab 9 Results coefficient of recovery test of berberin hydrochloride

编号	样品/mg	加样/mg	测得/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
1	1.267	0.025	1.291	96	93.33	2.21
2	1.267	0.025	1.290	92		
3	1.267	0.025	1.290	92		
4	1.267	0.025	1.291	96		
5	1.267	0.025	1.290	92		
6	1.267	0.025	1.290	92		

3.6.7 样品测定试验 经上述方法测定,第一批盐酸小檗碱的平均含量为 1.556 mg/mL,第二批盐酸小檗碱的平均含量为 1.503 mg/mL,第三批盐酸小檗碱的平均含量为 1.488 mg/mL, $RSD = 2.4\%$,说明不同批号的仔泻康口服液中盐酸小檗碱的含量稳定。

表 10 盐酸小檗碱含量测定结果表

Tab 10 Contents of berberin hydrochloride

批号	黄芩苷含量/(mg · mL ⁻¹)	RSD/%
1	1.556	2.4
2	1.503	
3	1.488	

4 讨论与结论

在白头翁皂苷 b4 鉴别研究中,同时参考中国药典(2015 版一部附录 VIB)和中国兽药典委员会(2010)方法^[9],两者相比,以中国兽药典委员会(2010)的展开剂正丁醇-醋酸-水(4:1:2)展开后显色,此方法分离度差,杂质多,超载严重,出现大斑点,此斑点会使白头翁皂苷 B4 位置的斑点模糊,影响结果的观察,而中国药典(2015 版一部附录 VIB)以氯仿-甲醇-水(7:3:0.5)下层溶液为展开剂,预饱和 10 min,可以得到良好清晰的斑点并且简单易便。

在盐酸小檗碱鉴别研究中,当展开剂以苯-乙酸乙酯-甲醇-异丙醇-浓氨溶液(12:6:3:3:1),分层效果虽然很好,但是苯时毒性物质,挥发快,易

在空气中扩散,对人危害性很大,不建议用此方法去定性鉴别黄连,当展开剂以环己烷-乙酸乙酯-异丙醇-甲醇-水-三乙胺(3:3.5:1:1.5:0.5:1)为展开剂,置氨蒸汽饱和的展开缸内熏蒸,熏蒸时间不够,分层不好,并且当板全跑时,供试品溶液与对照品相应的位置的荧光斑点有些虚,一般跑到离边缘 3 cm 左右时,效果较理想。

在黄芩苷鉴别研究中,对仔泻康口服液样品进行提取时,为了避免有效成分的损失,直接加甲醇溶解,结果是干扰成分太多,效果不太理想。而用一定量的乙酸乙酯萃取,过滤,结果斑点清晰,此萃取方法为仔泻康口服液的质量控制提供了有效、可靠的检测方法,也为水煎合剂中黄芩的薄层鉴别提供了借鉴。

在黄芪甲苷鉴别研究中,因黄芪甲苷在正丁醇中有一定的溶解度,而仔泻康口服液中其他成分在正丁醇中溶解度很小,故用正丁醇对供试品进行萃取,这样能除去一部分杂质而富集黄芪甲苷的含量,展开后的黄芪甲苷对照斑点清晰,阴性无干扰,效果较理想;同时也尝试用乙醇对供试品进行萃取,结果发现,乙醇的萃取效果没有正丁醇的好^[10],当放置时间长后,黄芪甲苷就会析出,不利于点样。

采用高效液相色谱法测定仔泻康口服液中的黄芩苷和盐酸小檗碱的含量,精密度高,分离度好,重现性好,保留时间适中,阴性无干扰,但是在黄芩苷样品标准品中出现两个峰,除标准峰以外的峰此峰经试验验证是溶剂峰,并对标准峰无干扰现象,

因此,通过黄连、黄芪、黄芩、白头翁的定性鉴别及黄芩苷和盐酸小檗碱的含量测定,能够达到控制泻康口服液质量控制的目的,为新药的研究提供试验资料。

参考文献:

- [1] 王海军,王胜义,齐志明,等. 寒痢宁口服液的薄层鉴别[J]. 中国畜牧兽医,2012,39(12):205-207.
Wang H J, Wang S Y, Qi Z M, *et al.* The TLC Identification of Hanlining oral liquid[J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2012, 39(12): 205-207.
- [2] 中国兽药典委员会,中华人民共和国兽药典二部[S].北京:中国农业出版社,2015.
Chinese Veterinary Pharmacopoeia Commission, two People's Republic of China Veterinary Pharmacopoeia [S]. Beijing: China Agriculture Press, 2015.
- [3] 章军,刘宇政,王跃生,等. HPLC 同时测定葛根苓连汤中 12 个有效成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(15):58-62.
Zhang J, Liu Y Z, Wang Y S, *et al.* Simultaneous determination of 12 active [J]. Components In Gegenqinlian Decoction by HPLC [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2011, 17(15): 58-62.
- [4] 王西彬,陈畅,何希荣,等. RP-HPLC 测定三黄片中黄芩苷和盐酸小檗碱的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(13):128-130.
Wang X B, Chen C, He X R, *et al.* Determination of contents of bacalin and berberin hydrochloride in Sanhuang tablets by RP-HPLC [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2012, 18(13): 128-130.
- [5] 王胜义,齐志明,刘治岐,等. 黄白口服液的质量控制研究[J]. 中国畜牧兽医,2011,38(12):226-231.
Wang S Y, Qi Z M, Liu Z Q, *et al.* Study on the quality standard of Huangbai oral liquid [J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2011, 38(12): 226-231.
- [6] 张荣,段美美. 双波长高效液相色谱法测定三黄颗粒中黄芩苷、小檗碱的含量[J]. 中药新药与临床药理,2013,24(2):183-185.
Zhang R, Duan M M. Determination of baicalin and berberin content in Sanhuang granules by double wavelength HPLC [J]. Traditional Chinese Drug Research and Clinical Pharmacology, 2013, 24(2): 183-185.
- [7] 郝乘仪,张家和,冯波. RP-HPLC 法同时测定龙泽熊胆胶囊中龙胆苦苷、盐酸小檗碱和黄芩苷含量[J]. 国际药学研究杂志,2016,43(4):757-760.
Hao C Y, Zhang J H, Feng B. Simultaneous determination three kinds of components in Longze Xiongdan capsule by RP-HPLC [J]. International Journal of Pharmaceutical Research, 2016, 43(4): 757-760.
- [8] 戚秋鹏,王中彦,刘天富. HPLC 法测定万氏牛黄清心微丸中盐酸小檗碱和黄芩苷的含量[J]. 沈阳药科大学学报,2003,20(5):352-355.
Qi Q P, Wang Z Y, Liu T F. Determination of the contents of berberine hydrochloride and baicalin in Wanshi Niu Huang Qingxin Pellets by HPLC [J]. Journal of Shenyang Pharmaceutical University, 2003, 20(5): 352-355.
- [9] 中国兽药典委员会,中华人民共和国兽药典二部[S].北京:中国农业出版社,2010.
Chinese Veterinary Pharmacopoeia, the second Veterinary Pharmacopoeia of the people's Republic of China [S]. Beijing: China Agricultural Press 2010.
- [10] 杨晓燕,杨洁,刘晓亚,等. 黄芪甲苷溶解性能及大鼠体内代谢研究[C]. 中华中医药学会中药分析分会学术交流会. 2013.
Yang X Y, Yang J, Liu X Y, *et al.* Inhibitory effect of luteolin on protein kinase CK2 [C]. Academic Seminar of Chinese traditional Medicine Analysis Branch of the Chinese Academy of traditional Chinese Medicine. 2013.

(编辑:陈希)