

## 茵陈五苓丸的质量标准研究

★ 孙国泉 利家平 陈新菊 (江西省药物研究所 南昌 330029)

**摘要:**目的:建立茵陈五苓丸的质量标准。方法:采用薄层色谱法(TLC)对本品中的茵陈、泽泻、肉桂等 3 味药材进行定性鉴别;采用高效液相色谱法对茵陈五苓丸中咖啡酸进行含量测定,采用 C18 色谱柱,流动相为乙腈-1.5% 醋酸溶液(9:91);结果:定性鉴别方法专属性强,咖啡酸浓度线性范围在 0.016 ~ 0.52  $\mu\text{g}$  ( $r = 0.999\ 5$ ),平均回收率为 98.34%, $RSD = 1.30\%$  ( $n = 6$ )。结论:所建立的标准能有效地控制茵陈五苓丸的质量。

**关键词:**茵陈五苓丸;薄层色谱;高效液相色谱;咖啡酸

**中图分类号:**R 288 **文献标识码:**A

茵陈五苓丸是由茵陈、泽泻、茯苓、猪苓、白术、肉桂六味药材经水泛丸而成的丸剂。在茵陈五苓丸的标准中无鉴别和含量测定项目,为了能更好的控制茵陈五苓丸的质量,本研究采用了薄层色谱法对方中的茵陈、泽泻和肉桂进行了定性鉴别<sup>[1~3]</sup>,采用了高效液相色谱法对君药茵陈中的咖啡酸进行了含量测定<sup>[4,5]</sup>,建立的质量标准能很好的控制茵陈五苓丸的质量。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

Waters 液相色谱仪(600 系列;2996 检测器;M32 色谱工作站);METTLER M3 电子天平( $d = 0.001\text{mg}$ );KQ-250 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

### 1.2 试剂

咖啡酸对照品(批号:110885-200102)、桂皮醛对照品(批号:111710-200513)、茵陈对照药材(批号:120950-200305)、泽泻对照药材(批号:1081-9901)均由中国药品生物制品检定所提供。薄层层析用硅胶 G(青岛海洋化工厂);羧甲基纤维素钠(上海信益科技实业公司)。茵陈五苓丸,批号:20060503、20060504、20060505、20060701 由江西青春康源药业有限公司生产;批号:06072601 由北京亚东生物制药有限公司生产。乙腈、甲醇为色谱纯,水为重蒸水,其它试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 薄层色谱鉴别

**2.1.1 茵陈** 取本品细粉 4 g,加无水乙醇 50 ml,回流 30 分钟,过滤,滤液蒸干,残渣加氢氧化钠溶液( $0.2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )5 ml 使溶解,再加 2% 盐酸溶液 5 ml,摇匀,过滤,滤液加氯仿 10 ml,振摇数分钟,分取氯仿层,蒸干,残渣用无水乙醇溶解至 1 ml,作为供试品溶液;另取茵陈对照药材 0.5 g,同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法(中国药典 2005 年版一部附录 VI B)试验,吸取上述两种溶液各 10  $\mu\text{l}$ ,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(60 ~ 90  $^{\circ}\text{C}$ )-乙酸乙酯-丙酮(5:3:2)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 氢氧化钾乙醇溶液,置紫外灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同的蓝色荧光主斑点。阴性对照样品则无此蓝色荧光斑点。

**2.1.2 泽泻** 取本品细粉 7 g,加水 50 ml,超声外理(250 W,40 kHz)1 小时,滤过,滤液加乙醚 30 ml 及饱和氯化钠水溶液 5 ml,充分振摇,分取乙醚层,重复萃取一次,合并醚层,挥干,残渣加乙酸乙酯 1 ml 溶解,作为供试品溶液;另取泽泻对照药材 1 g,同法外理,作为对照药材溶液。照薄层色谱法(中国药典 2005 年版一部附录 VI B)试验,吸取上述溶液各 10  $\mu\text{l}$ ,点于同一含有羧甲基纤维素钠的硅胶 G 薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(10:3:0.2)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,105  $^{\circ}\text{C}$  加热至斑点清晰。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。阴性对照样品则无此斑点。

2.1.3 肉桂 取本品细粉 2 g,加乙醇 5 ml,冷浸 20 分钟,时时振摇,滤过,滤液作为供试品溶液;另取桂皮醛对照品,加乙醇制成每 ml 含 1  $\mu$ l 的溶液,作为对照品溶液,照薄层色谱法(中国药典 2005 年版一部附录 VI B)试验,吸取供试品溶液 5~10  $\mu$ l,对照品溶液 2  $\mu$ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(60~90  $^{\circ}$ C)-乙酸乙酯(17:3)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以二硝基苯肼乙醇试液。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。阴性对照样品则无此斑点。

## 2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件 Attline C18 色谱柱(4.6 mm  $\times$  250 mm,5  $\mu$ m);以乙腈-1.5% 醋酸溶液(9:91)为流动相;流速 1.0 ml $\cdot$ min $^{-1}$ ;检测波长为 325 nm。

2.2.2 对照品溶液的制备 取咖啡酸对照品适量,精密称定,加 50% 甲醇制成每 1 ml 含 65  $\mu$ g 的溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品细粉约 1.5 g,精密称定,置 100 ml 回流瓶中,加 50% 甲醇 25 ml,称重,回流 1 小时,取出,放冷,再称重,不足重量用 50% 甲醇补足,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

阴性对照液的制备 取缺茵陈的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成阴性对照液。

2.2.4 系统适用性及方法专属性考察 取咖啡酸对照品溶液,供试品溶液和阴性对照液在上述色谱条件下进行分析,咖啡酸峰保留时间约为 23 分钟,与其它成分之间的分离度大于 1.5,理论板数大于 2000。阴性对照液在此保留时间无峰,说明无干扰。

2.2.5 线性关系考察 精密称取咖啡酸对照品适量,用 50% 的甲醇溶解并稀释到一定浓度,从中吸取不同体积注入色谱仪,进行测定,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标画曲线,结果在 0.016~0.52  $\mu$ g 的范围内呈一直线,回归方程为  $Y = 5\ 105\ 462X + 17\ 705$ ,相关系数  $r = 0.999\ 5(n = 8)$ 。

2.2.6 重复性试验 取同一批样品(批号:20060503)配制 6 份同一浓度的供试品溶液进行测定,计算得平均含量为 1.01 mg $\cdot$ 袋 $^{-1}$ ,RSD 为 1.19%。

2.2.7 样品溶液的稳定性试验 取样品溶液 1 份,在 0,1,2,4,6,8 和 24 小时测定,结果,峰面积的 RSD 为 0.93%,说明 24 小时内供试品溶液稳定。

2.2.8 回收率试验 取已知含量的样品(批号:20060503)适量,加入一定量的咖啡酸对照品,共 6

份,制成供试品溶液,进行测定,计算平均回收率为 98.34%,RSD 为 1.30%。

2.2.9 样品测定 取 5 个批号的样品,精密称取 1.5 g,每批 2 份,照上述含量测定方法检测,结果见表 1。

表 1 样品的含量测定结果

| 生产厂家         | 批号       | 含量/mg $\cdot$ 袋 $^{-1}$ | 平均值  | RSD(%) |
|--------------|----------|-------------------------|------|--------|
| 江西青春康源制药有限公司 | 060503   | 1.014                   | 1.00 | 2.13   |
| 江西青春康源制药有限公司 | 060504   | 0.804                   | 0.80 | 0.64   |
| 江西青春康源制药有限公司 | 060505   | 0.761                   | 0.76 | 0.88   |
| 江西青春康源制药有限公司 | 060701   | 0.576                   | 0.57 | 0.35   |
| 北京亚东生物制药有限公司 | 06072601 | 2.243                   | 2.26 | 1.25   |
|              |          | 2.283                   |      |        |

## 3 讨论

茵陈五苓丸处方中君药为茵陈,茵陈药材主要含有多挥发物质和氯原酸、咖啡酸等成分。在含量测定的研究过程中,同时对氯原酸和咖啡酸进行了含量测定,发现阴性样品对茵陈中的氯原酸有干扰,因此在本品中只选择了咖啡酸作为含量测定的成分。

经使用水、乙醇和甲醇等不同浓度的溶剂对样品进行提取试验,并用超声提取与回流的方式进行比较,经考察提取时间后,结果以 50% 的甲醇回流 1 小时的方式提取样品中的咖啡酸最完全。

选用 Attline C<sub>18</sub> 色谱柱,对多种流动相进行了试验,如甲醇-1% 醋酸液,乙腈-0.4% 磷酸液,乙腈-1% 醋酸(1.5%;2%)等,结果本品以乙腈-1.5% 醋酸液为流动相,分离效果最佳,因此在本法中选择了乙腈-1.5% 醋酸液(9:91)作为流动相。

本方法准确、灵敏、可靠,适用于茵陈五苓丸的质量控制。

## 参考文献

- [1] 李战,冯琦. 轻身减肥片的薄层定性鉴别[J]. 中成药,2006,28(2):294.
- [2] 熊带水,范宋玲,宁德山. 利尿胶囊质量标准的研究[J]. 2002,24(12):926.
- [3] 国家药典委员会. 中国药典, I 部[S]. 北京:化学工业出版社,2005:91.
- [4] 邓湘昱,孙国祥,刘霄. 茵陈及射干抗病毒注射液中绿原酸和咖啡酸的含量测定[J]. 中国药业,2005,14(4):41.
- [5] 宋小军,张永欣,张颖,等. 绵茵陈药材中绿原酸性定量方法研究[J]. 中国中药杂志,2002,27(4):267.

(收稿日期:2008-06-24)