

# 明黄膏质量标准的研究

李平<sup>1,2,5</sup>, 张建林<sup>3</sup>, 刘志红<sup>4</sup>, 王爱勤<sup>1</sup> (1. 中国科学院兰州化学物理研究所, 甘肃 兰州 730000; 2. 兰州大学第二医院, 甘肃 兰州 730030; 3. 甘肃省药品检验所, 甘肃 兰州 730000; 4. 厦门大学, 福建 厦门 361005; 5. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

[摘要] 目的: 研究明黄膏质量标准。方法: 采用薄层色谱(TLC)法对明黄膏中的主要成分大黄、黄连、苦参进行定性鉴别; 高效液相色谱(HPLC)法测定明黄膏中大黄酚的含量。结果: TLC 色谱中均能明显地检出大黄、黄连、苦参; HPLC 法测得本品中大黄酚的含量为 0.267~0.308 mg·g<sup>-1</sup>; 在 10.02~100.16 mg·L<sup>-1</sup> 的范围内, 溶液的浓度与峰面积呈良好线性关系,  $r = 0.9999$ ; 加样平均回收率为 98.48% ( $n = 6$ ), RSD 为 1.20%。结论: 本品定性、定量方法简便、准确, 专属性强, 质量标准能够控制该制剂的内在质量。

[关键词] 明黄膏; 薄层色谱; 高效液相色谱; 大黄酚

[中图分类号] R283.67 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5213(2005)04-0298-03

## Study on quality standard of Minghuanggao gel

LI Ping<sup>1,2,5</sup>, ZHANG Jianlin<sup>3</sup>, LIU Zhihong<sup>4</sup>, WANG Aiqin<sup>1</sup> (1. Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Gansu Lanzhou 730000, China; 2. The 2nd Hospital of Lanzhou University, Gansu Lanzhou 730000, China; 3. Gansu Provincial Institute for Drug Control, Gansu Lanzhou 730000, China; 4. Amoy University, Fujian Amoy 361005, China; 5. School of Graduate students, Chinese Academy of Science, Beijing 100031, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To study the quality standard of Minghuanggao gel. **METHODS** *Radix et Rhizoma Rhei*, *Rhizoma Coptidis* and *Radix Sophorae Flavescentis* in Minghuanggao gel were identified by TLC. The content of chrysophanol in this preparation was determined by HPLC. **RESULTS** *Radix and Rhizoma Rhei*, *Rhizoma Coptidis* and *Radix Sophorae Flavescentis* in Minghuanggao gel could be detected obviously by TLC. The content of chrysophanol in this gel was 0.267-0.308 mg·g<sup>-1</sup>. The linear ranges were 10.02-100.16 mg·L<sup>-1</sup> with good positive correlation. The average recovery of chrysophanol was 98.48% ( $n = 6$ ), RSD = 1.20%. **CONCLUSION** TLC is a simple, method HPLC is accurate and reliable method. The quality standard can be used for quality control of this product.

**KEY WORDS:** Ming huang gao gel; TLC; HPLC; chrysophanol

明黄膏以大黄、黄连、白芷、苦参、木鳖子等为方药, 以卡波姆、羧化壳聚糖为辅料, 制成中药凝胶剂, 临床用于治疗神经性皮炎、痤疮等皮肤病, 取得了满意的疗效。为更好地控制其质量, 保证该制剂的临床疗效, 本研究采用 TLC 法对制剂中黄连、大黄、苦参进行了定性鉴别, 采用 HPLC 法对制剂中的主要有效成分大黄酚进行了含量测定, 现报道如下。

### 1 材料

SP8810 高效液相色谱仪, SP8450 紫外检测器, SP4290 积分仪(美国光谱物理公司); UV-4 型多功能 2537 3650A° 四用紫外线分析仪(江苏南通二甲物理仪器厂)。硅胶 G、硅胶 H 薄层板(青岛海洋化工厂); 大黄酸、大黄酚、大黄素、苦参碱、氧化苦参碱、槐定碱、小檗碱对照品及大黄、黄连、苦参对照药材(中国药品生物制品检定所); 明黄膏(自制, 批号 020307, 020319, 020327); 明黄膏缺大黄、黄连、苦参的阴性样品(甘肃省药检所); 处方所用药材均符合中国药典 2000 年版一部标准; 甲醇为色谱纯; 其余试剂均为分

析纯。

### 2 质量标准

2.1 性状 本品为水溶性棕黄色的稠厚液体。

#### 2.2 鉴别

2.2.1 黄连的薄层色谱鉴别 取本品 1 g, 加甲醇 20 mL, 加热回流 30 min, 放冷, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取黄连对照药材粉末 0.1 g 及缺黄连的阴性样品 1 g, 同法制成对照药材溶液及阴性样品溶液。再取小檗碱对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液, 作为对照品溶液。吸取上述 4 种溶液各 5  $\mu$ L, 分别点于同一硅胶 H 薄层板上, 以苯-醋酸乙酯-甲醇-异丙醇-浓氨试液(12:6:3:3:1)为展开剂, 置用氨蒸气预饱和 15 min 的展开缸内, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中, 在与对照药材和对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点。而阴性对照液却无相应的斑点。

2.2.2 大黄的薄层色谱鉴别 取本品 2 g, 加甲醇 20

[基金项目] 甘肃省科技厅中青年科技基金资助项目(编号: YS-011-A23-015) [作者简介] 李平, 男, 博士研究生, 主任药师, 电话: 13038725178, E-mail: gsliping@163.com [通讯作者] 王爱勤, 男, 博士, 研究员, 博士生导师

mL, 超声处理 15min, 过滤, 取续滤液 5 mL 蒸干, 按文献方法<sup>[1]</sup>制备供试品溶液、对照药材溶液、缺大黄的阴性样品溶液及每 1 mL 各含大黄素、大黄酸对照品 0.5 mg 的对照品溶液, 进行 TLC 鉴定。结果在紫外光灯 (365 nm) 下检视, 供试品色谱中, 在与对照药材色谱及对照品色谱相应的位置上显相同的橙黄色荧光斑点。置氨蒸气中熏后, 日光下检视, 斑点变为红色。而阴性对照液却无相应的斑点。

**2.2.3 苦参的薄层色谱鉴别** 取本品 2 g, 加浓氨试液 0.5 mL, 搅拌, 加氯仿 25 mL, 时时振摇, 放置过夜, 过滤, 滤液加少量稀盐酸使酸化, 用水 25 mL 振摇提取。弃去氯仿层, 水层加氨试液使成碱性, 再用氯仿 25 mL 振摇提取, 蒸干提取液, 残渣加氯仿 0.5 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取苦参对照药材粉末 0.5 g 及缺苦参的阴性样品 2 g, 同法制成对照药材溶液及阴性样品溶液。再取苦参碱、氧化苦参碱和槐定碱对照品, 加乙醇制成每 1 mL 各含 0.2 mg 的混合溶液, 作为对照品溶液。吸取上述 4 种溶液各 5  $\mu$ L, 分别点于同一硅胶 H 薄层板上, 以苯丙酮-醋酸乙酯-浓氨试液 (2:3:4:0.2) 为展开剂, 展开, 展距 8 cm, 取出, 晾干, 再以氯仿-甲醇-浓氨试液 (5:0.6:0.2) 为展开剂, 展开, 展距同上, 取出, 晾干, 喷以碘化铋钾试液。结果供试品色谱中, 分别在对照药材和对照品色谱相应的位置上, 显相同的 3 个橙黄色斑点。而阴性对照液却无相应的斑点。

## 2.3 检查

**2.3.1 装量** 取本品, 照最低装量检查法<sup>[1]</sup>。

**2.3.2 微生物限度** 照微生物限度检查法<sup>[1]</sup>。

**2.3.3 其他** 应符合凝胶剂项下有关各项规定<sup>[1]</sup>。

## 2.4 含量测定

**2.4.1 色谱条件与系统适用性试验** 色谱柱: Dikma C<sub>18</sub> 柱 (14.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu$ m), 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 甲醇-0.2% 磷酸溶液 (85:15) 为流动相, 检测波长为 254 nm; 理论塔板数按大黄酚峰计算应不低于 2 000。

### 2.4.2 溶液的制备

**2.4.2.1 对照品溶液的制备** 精密称取大黄酚对照品 6.26 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加乙腈溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品贮备液。精密量取对照品贮备液 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加乙腈稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液 (25.04 mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup>)。

**2.4.2.2 供试品溶液的制备** 取本品 2 g, 精密称定, 置锥形瓶中, 精密加乙醇 20 mL, 密塞, 称定重量, 置水浴上加热回流 30 min, 放冷, 用乙醇补足减失的重量, 滤过。精密量取续滤液 10 mL 置锥形瓶中, 水浴蒸干, 加 20% 硫酸 10 mL, 超声处理 5 min, 再加氯仿 20 mL, 置水浴上加热回流 60 min, 立即冷却, 移至分液

漏斗中, 分取氯仿层, 酸液用氯仿振摇提取 3 次, 每次 10 mL, 合并氯仿液, 加无水硫酸钠 2.5 g, 脱水, 滤过, 用少量氯仿洗涤残渣, 合并, 回收氯仿, 残渣用乙腈溶解, 移至 10 mL 量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 用 0.45  $\mu$ m 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

**2.4.2.3 阴性对照溶液的制备** 取缺大黄的阴性样品 2 g, 同供试品溶液的制备法制备阴性样品溶液。

**2.4.3 干扰试验** 分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性样品溶液各 10  $\mu$ L 注入色谱仪, 记录色谱图 (图 1), 从图中可见, 供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 有相同保留时间 (17.23 min) 的色谱峰, 而阴性样品色谱在此保留时间无干扰, 证明本法可行。

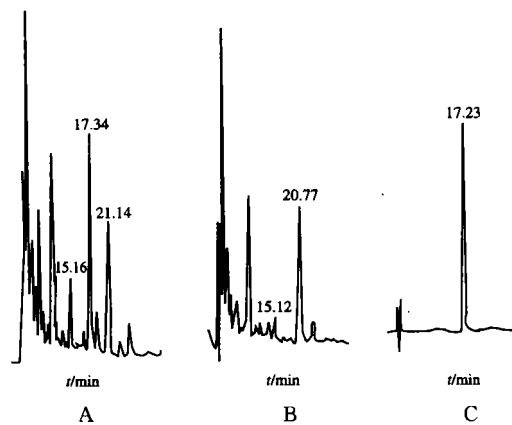


图 1 HPLC 色谱图

A- 样品; B- 阴性样品; C- 大黄酚对照品

Fig 1 HPLC Chromatograms

A- Test solution; B- Blank solution; C- Standard solution of chrysophanol

**2.4.4 线性关系考察** 精密量取上述对照品贮备液 0.4, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加乙腈稀释至刻度, 摇匀, 制成含不同浓度大黄酚的系列溶液, 分别精密吸取 10  $\mu$ L 注入液相色谱仪中, 测定峰面积, 以浓度  $X$  为横坐标, 峰面积  $Y$  为纵坐标, 得回归方程为  $Y = 13\,480X - 3\,812$ ,  $r = 0.999\,9$ , 线性范围 10.02~100.16 mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup>。

**2.4.5 精密度试验** 精密吸取对照品溶液 10  $\mu$ L, 连续进样 5 次, 测定峰面积, 结果大黄酚 RSD 为 0.72% ( $n = 5$ )。

**2.4.6 稳定性试验** 分别取 1 份供试品溶液及 1 份对照品溶液, 在 0, 1, 4, 10, 24 h 测定峰面积。结果供试品 RSD 为 1.17% ( $n = 5$ )。对照品 RSD 为 1.12% ( $n = 5$ )。表明供试品溶液及对照品溶液在 24 h 内是稳定的。

**2.4.7 供试品测定** 按“系统适用性试验”项下方法分别制备对照品溶液与供试品溶液, 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10  $\mu$ L, 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 按峰面积外标法计算, 结果见表 1。

表 1 供试品测定结果 (n=3)

Tab 1 The results of sample determination (n=3)

供试品批号	大黄酚含量 /mg·g <sup>-1</sup>				RSD/ %
	1	2	3	平均	
020307	0.262	0.270	0.268	0.267	1.56
020319	0.313	0.307	0.304	0.308	1.49
020327	0.301	0.297	0.293	0.297	1.35

2.4.8 加样回收率试验 取本品适量,精密称定,置锥形瓶中,分别精密加入大黄酚对照品溶液(232 mg·L<sup>-1</sup>)0.5, 1, 1.5 mL, 照“3.3.2”供试品溶液制备项从“精密加乙醇 20 mL”起,按供试品测定项下操作,测定峰面积,计算回收率,结果见表 2。

表 2 加样回收率试验结果 (n=6)

Tab 2 The results of chrysophanol recovery rate (n=6)

供试品量 /g	所含大黄酚的量 /μg	加入量 /μg	测得量 /μg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1.358 9	18.14	5.8	23.81	97.76		
1.507 9	20.13	5.8	25.97	100.69		
1.133 6	15.13	11.6	26.51	98.10	98.48	1.20
1.301 7	17.38	11.6	28.83	98.71		
0.775 9	10.36	17.4	27.29	97.30		
0.730 4	9.75	17.4	26.86	98.33		

### 3 讨论

苦参碱和槐定碱分离不好,本研究采用药典含量测定项下的展开剂,只用碘化铯钾显色,此展开系统能够达到对苦参碱和槐定碱的有效分离,而氧化苦参碱则在原点位置不动。后经反复试验,本研究采用 2 种展开剂及 1 种显色剂,达到对这 3 种组分的同时有效分离,且斑点清晰。

按照中国药典 2000 年版规定,大黄的含量测定一般是测定大黄素和大黄酚的含量总和。在本品中,因在大黄素的峰保留时间处有其他杂质峰干扰,而在大黄酚的峰保留时间处无其他杂质峰干扰,故本品仅以大黄酚的含量作为定量控制标准。

根据制剂处方中所含主药的理化性质,通过定性鉴别、检查、含量测定等研究,制定了可控制本品内在质量的质量标准。结果表明,薄层色谱灵敏、分辨率高,无阴性药材的干扰, HPLC 法测定本品中大黄酚的含量,方法简便、可靠、准确。

#### 参考文献:

[1] 中国药典.一部[S]. 2000. 18, 附录 20, 79, 92.

[收稿日期] 2004-04-20

## 高效液相色谱法测定杜仲颗粒中京尼平苷酸和绿原酸的含量

彭密军<sup>1,2</sup>, 张敏<sup>1</sup>, 刘建兰<sup>1</sup>, 周春山<sup>2</sup> (1. 吉首大学, 湖南 张家界 427000; 2. 中南大学化学化工学院, 湖南 长沙 410083)

[摘要] 目的: 建立杜仲颗粒中两种活性成分京尼平苷酸和绿原酸快速、同时测定的方法。方法: 采用反相高效液相色谱法(RP-HPLC)测定, C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 甲醇-水-冰乙酸(14.5: 85: 0.5)为流动相, 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 25 °C, 检测波长 236 nm, 灵敏度: 0.08 AUFS, 进样体积 6 μL。结果: 该方法线性关系良好, 京尼平苷酸和绿原酸的回收率分别为 99.03%, 99.99%, 测定结果 RSD 分别为 0.134%, 1.72%。结论: 该法快速、可靠、简单、灵敏度高。

[关键词] 高效液相色谱法; 杜仲颗粒; 京尼平苷酸; 绿原酸

[中图分类号] R927.2 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5213(2005)04-0300-03

### Simultaneous determination of geniposidic acid and chlorogenic acid in Duzhong (*Eucommia ulmoides* Oliv.) granules by HPLC

PENG Mijun<sup>1,2</sup>, ZHANG Min<sup>1</sup>, LIU Jianlan<sup>1</sup>, ZHOU Chunshan<sup>2</sup> (1. Ji Shou University, Hunan Zhangjiajie 427000, China; 2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Central South University, Hunan Changsha 410083, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To develop a RP-HPLC method for the determination of geniposidic acid and chlorogenic acid in Duzhong granules, a kind of Chinese traditional patent medicine simultaneously. **METHODS** C<sub>18</sub> column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used as the stationary phase in the reversed phase high performance liquid chromatography, and the mobile phase was methanol-water-acetic acid=14.5: 85: 0.5 at the flow rate of 1 mL·min<sup>-1</sup>. The detection wavelength was 236 nm, and the temperature of column was 25 °C. **RESULTS** The calibration curves were obtained. The relative standard deviations the two compounds were 0.134% and 1.72%, and the mean recoveries were 99.03%, 99.99% respectively. **CONCLUSION** The method is simple and sensitive.

**KEY WORDS:** HPLC; Duzhong; geniposidic acid; chlorogenic acid

杜仲颗粒系中成药, 主要含杜仲皮和杜仲叶提取物, 其重要活性成分为京尼平苷酸(geniposidic acid,

[基金项目] 湖南省教育厅青年项目(编号: 02B028), 湖南省科技厅攻关计划资助项目(编号: 03NKY2019) [作者简介] 彭密军, 女, 博士, 副教授, 电话: 0744-8231386, E-mail: mijunp@sina.com