

- 介绍[J]. 中国药事, 2008, 22(11): 1005-1007.
- [3] 绍林, 邵新. 超微粉碎技术对部分中药疗效的作用[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(7): 1728-1729.
- [4] 王钢力, 陈道峰, 林瑞超. 肿节风的化学成分及其制剂质量控制研究进展[J]. 中草药, 2003, 34(8): 12-14.
- [5] Luo YM, Liu AH. Two new teipenoid saponins from *Sarcandra glabra*[J]. J Asian Nat Prod Res, 2005, 7(6): 928-934.
- [6] Zheng WJ, Wang SF, Chen XG. Analysis of *Sarcandra glabra* and its medicinal preparations by capillary electrophoresis[J]. Talanta, 2003, 60(5): 955-960.
- [7] 黄明菊, 李妍岚. 肿节风化学成分研究[J]. 中南药学, 2007, 5(5): 459-461.
- [8] 王菲, 袁胜涛, 朱丹妮. 肿节风抗肿瘤活性部分的化学成分[J]. 中国天然药物, 2007, 5(3): 174-178.
- [9] Psotova J, Svo bodova A, Kolarova H, et al. I Photoprotective Properties of *Prunella vulgaris* and rosmarinic acid on human keratinocytes[J]. Journal of Photochemistry and Photobiology, 2006, 84: 167-174.
- [10] 孙珣, 王靖超, 李洪涛, 等. 迷迭香酸的抗菌机理研究[J]. 青岛大学学报(自然科学版), 2005, 18(4): 41-44.
- [11] 吴建章, 郁建平, 赵东亮. 迷迭香酸的研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17(3): 383-388.
- [12] 李婷婷, 肖小武, 宁火华, 等. HPLC 法测定肿节风药材中异嗟皮啉和迷迭香酸的含量[J]. 南昌大学学报, 2010, 34(4): 358-360.
- [13] 张学婷, 刘启德, 曾武, 等. HPLC 法同时测定桂附地黄丸中马钱苷、芍药苷、丹皮酚和没食子酸的含量[J]. 中药新药与临床药理, 2014, 25 (2): 201-204.

(编辑: 邓响潮)

复方叶下珠滴丸质量标准及稳定性研究

徐晓梅¹, 谭本仁¹, 朱兴保², 郭基燕², 张伟明¹, 许卫关¹, 刘贤英³(1. 汕头大学医学院附属粤北人民医院药剂科, 广东 韶关 512026; 2. 韶关市食品药品检验所, 广东 韶关 512028; 3. 顺德顺峰药业有限公司, 广东 顺德 528300)

摘要: **目的** 研究复方叶下珠滴丸的质量标准方法并考察其稳定性。**方法** 采用薄层色谱法对滴丸中叶下珠和半边莲成分进行定性鉴别; 用高效液相色谱法(HPLC)测定滴丸中没食子酸和绿原酸的含量; 通过加速试验和长期试验考察其稳定性。**结果** 定性鉴别分离度好, 易于鉴别。含量测定中, 没食子酸浓度在 15.04~120.32 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内, 浓度与峰面积的线性关系良好($r=0.9992$), 没食子酸的平均回收率为: 99.25%, RSD 为 0.95% ($n=6$); 绿原酸在浓度 10.12~202.4 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内呈良好的线性关系($r=0.9996$), 绿原酸的平均回收率为: 99.89%, RSD 为 0.7% ($n=6$)。3 批次复方叶下珠滴丸试样经 6 个月加速试验和 12 个月长期试验考察, 各项指标均符合质量标准要求。**结论** 所建立方法操作简单, 灵敏度高和重现性好; 制剂在常温下保存稳定性良好; 可作为该制剂的质量控制方法。

关键词: 复方叶下珠滴丸; 叶下珠; 半边莲; 质量标准; 稳定性

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)04-0483-05

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.04.023

Study on Quality Standard and Stability of Compound *Phyllanthus urinaria* Dripping Pills

XU Xiaomei¹, TAN Benren¹, ZHU Xingbao², GUO Jiyan², ZHANG Weiming¹, XU Weiguan¹, LIU Xianying³

(1. The Affiliated Yuebei People's Hospital of Shantou University Medical College, Shaoguan 512026 Guangdong, China; 2. Shaoguan Institute for Food and Drug Control, Shaoguan 512028 Guangdong, China; 3. Shunfeng Pharmaceutical Co., Ltd, Shunde 528300 Guangdong, China)

Abstract: Objective To establish a method for the quality standard of the compound *Phyllanthus uainaria* dripping

收稿日期: 2014-03-28

作者简介: 徐晓梅, 女, 副主任药师, 研究方向: 医院药学研究。Email: xuxiaomei181@126.com。

基金项目: 广东省中医药局科研项目(2008045)。

pills and to inspect the stability. **Methods** Qualitative identification was made by thin layer chromatography (TLC) for *Phyllanthus urinaria* and Herba Lobeliae Chinesis in the dripping pills. Determination of gallic acid and chlorogenic acid in the dripping pills was carried out by HPLC. Accelerated test and long-term test were used for evaluating the stability of the dropping pills. **Results** *Phyllanthus urinaria* and Herba Lobeliae Chinesis in the dripping pills could be identified by TLC. The gallic acid showed good linearity in the range of 15.04 ~ 120.32 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.9992$), the average recovery rate was 99.50 % with RSD of 0.9 % ($n=6$). Chlorogenic acid showed good linearity in the range of 10.12 ~ 202.4 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($r=0.9996$), the average recovery rate was 99.89 %, and RSD was 0.7 % ($n=6$). The results of six-month accelerated test and 12-month long-term test showed that the quality indexes of three batches of the compound *Phyllanthus uainaria* dripping pills were consistent with the regulations of drug quality criteria. **Conclusion** The method is simple, highly specific and reproducible, and it can be applied for the quality control of compound *Phyllanthus uainaria* dripping pills. The dripping pills are stable at room temperature.

Keywords: Compound *Phyllanthus urinaria* dripping pills; *Phyllanthus urinaria*; Herba Lobeliae Chinesis; Quality standard; Stability

复方叶下珠滴丸是以叶下珠为主药, 配予清热解毒、利尿消肿的半枝莲和半边莲; 清热退湿的茵陈、鸡骨草; 行气化痰、舒肝升阳的丹参、郁金以及补气固表、健脾宁心的茯苓、白术等中草药制成的中成药现代滴丸制剂^[1]。叶下珠 (*Phyllanthus urinaria* L.) 为大戟科 (*Euphorbiaceae*) 叶下珠属 (*Phyllanthus* L.) 的全草, 具有平肝清热、利水解毒之效, 用于治疗肠炎、痢疾、尿路感染和无名肿痛等^[2-3]。印度学者 Thyagarajan^[4]曾报告叶下珠 (*Phyllanthus amarus* L.) 治疗乙肝病毒携带者, 可使 59 % 患者的乙肝表面抗原 (HB-sAg) 转阴。复方叶下珠滴丸分离出的多酚和鞣质为其主要活性成分, 其中又以没食子酸和绿原酸为代表, 没食子酸和绿原酸均具有良好的抗乙型肝炎表面病毒 (HBsAg/HBeAg) 作用^[5]。本研究采用薄层色谱法对复方叶下珠滴丸中叶下珠和半边莲成分进行定性鉴别, 用高效液相色谱法 (HPLC) 检测没食子酸和绿原酸含量, 旨在制定复方叶下珠滴丸质量标准提供科学依据。

1 试药与仪器

1.1 试药 没食子酸对照品, 中国药品生物制品检定所, 批号: 110831-200302; 绿原酸对照品, 中国药品生物制品检定所, 批号: 110753-201314; 叶下珠对照药材, 中国药品生物制品检定所, 批号: 121374-200401; 半边莲对照药材, 中国药品生物制品检定所, 批号: 121142-200502; 复方叶下珠滴丸样品及其阴性制剂, 由本院制剂室和顺德顺峰制药有限公司实验室自制; 甲醇、乙腈为色谱纯, 其他

试剂均为分析纯, 西陇化工股份有限公司。

1.2 仪器 AG-135 电子天平, 瑞士 Mettlet Toledo 公司; Agilent-1200 高效液相色谱仪液, 安捷伦科技有限公司; 硅胶 G 预制板, 青岛海洋化工厂分厂; HT-300BQ 数控超声波清洗器, 济宁恒通超声电子设备有限公司。

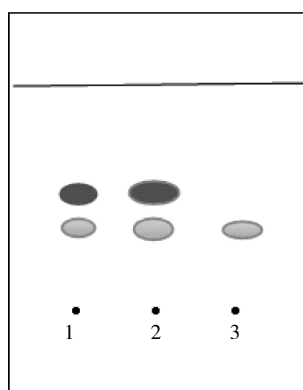
2 方法与结果

2.1 复方叶下珠滴丸薄层鉴别

2.1.1 叶下珠的薄层鉴别 取复方叶下珠滴丸 20 丸, 研碎, 取约 0.5 g, 加 50 % 甲醇 20 mL, 超声提取 (功率 200 W) 30 min, 冷藏放置过夜, 再滤过除去基质, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。取叶下珠对照药材, 同法分别制成叶下珠对照药材溶液。再取不含叶下珠的本方制剂同法制得不含叶下珠的阴性样品溶液。按照薄层色谱法 (《中国药典》2010 年版附录 VI B) 吸取上述 3 种溶液各 5 μL , 点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-醋酸乙酯-甲酸 (6 : 4 : 1) 为展开剂展开, 取出, 晾干, 喷以 1 % 三氯化铁乙醇溶液, 热风吹至斑点显色。供试品溶液色谱中与对照药材溶液色谱相对应的位置上显相同的蓝色主斑点, 阴性无干扰, 见图 1。

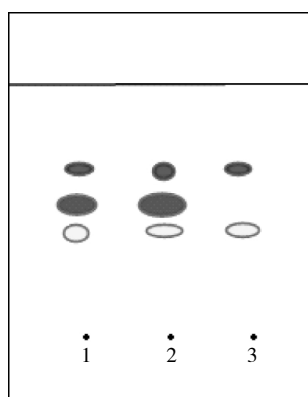
2.1.2 半边莲的薄层鉴别 取复方叶下珠滴丸 20 丸, 研碎, 取约 0.5 g, 加甲醇 20 mL, 超声提取 30 min, 冷藏放置过夜, 过滤, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取半边莲对照药材, 同法制成半边莲对照药材溶液。再取不含半边莲的本方制剂同法制得不含半边莲的阴性样品溶液。

按照薄层色谱法(中国药典 2010 年版附录 VI B)吸取上述 5 种溶液各 5 μL , 点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷: 甲醇 (9 : 1) 为展开剂展开, 取出, 晾干, 喷以 1 % 硫酸乙醇溶液, 在 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点清晰, 置紫外灯 (365 nm) 下检视。供试品溶液色谱中与对照药材溶液色谱相对应的位置上显相同的颜色主斑点, 阴性无干扰, 见图 2。



1. 供试品 2. 对照品 3. 阴性对照品
图 1 叶下珠 TLC 图

Figure 1 TLC of *Phyllanthus urinaria*



1. 供试品 2. 对照品 3. 阴性对照品
图 2 半枝莲 TLC 图

Figure 2 TLC of *Herba Lobeliae Chinesis*

2.2 没食子酸的含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱: Kromasil 100-5 C_{18} (250 $\times$ 4.6 mm), 流动相: 甲醇-0.1 % 磷酸 (10:90), 检测波长 270 nm; 流速: 1 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$ 。进样量 5 μL 。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取没食子酸对照品 15 mg, 置于 50 ml 量瓶中, 加 50 % 甲醇溶解至刻度, 作为对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取复方叶下珠滴丸研碎, 取约 1.0 g, 精密称定, 置于 20 mL 量瓶中, 加 50 % 甲醇适量, 超声 30 min, 放冷, 用 50 % 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 过滤, 用微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 即

得。

2.2.4 阴性对照品溶液的制备 按复方叶下珠滴丸处方比例制成缺叶下珠阴性对照, 再按 2.2.3 项下制备成叶下珠阴性对照品溶液。

2.2.5 标准曲线制备 精密称取没食子酸对照品溶液 1, 2, 4, 6, 8 mL, 至 20 mL 容量瓶中, 加 50 % 甲醇稀释至刻度。按 2.2.1 项下色谱条件试验, 测定各浓度的峰面积。以没食子酸对照品溶液浓度 (X) 为横坐标, 以峰面积 (Y) 为纵坐标, 进行线性回归计算, 得线性方程为: $Y=14.777X+13.862$, 没食子酸浓度在 15.04 ~ 120.32 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内呈良好的线性关系, $r = 0.9992$ 。

2.2.6 样品的测定 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 5 μL , 注入高效液相色谱仪, 记录色谱图, 按外标法以峰面积计算。对照品、供试品、阴性对照品的色谱见图 3。

2.3 绿原酸含量测定

2.3.1 色谱条件 色谱柱: Kromasil 100-5 C_{18} (250 $\times$ 4.6 mm), 流动相: 乙腈-0.4 % 磷酸溶液 (10 : 90), 检测波长 327 nm; 流速: 1 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$ 。进样量 10 μL 。

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称取 110 $^{\circ}\text{C}$ 干燥至恒质量的绿原酸对照品 10 mg, 置于 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解至刻度, 作为对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 取复方叶下珠滴丸研碎, 取约 4.0 g, 精密称定, 置于 25 mL 量瓶中, 加 20 % 甲醇适量, 超声 30 min, 放冷, 用 20 % 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 过滤, 用微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 即得。

2.3.4 阴性对照品溶液的制备 按复方叶下珠滴丸处方比例制成缺茵陈阴性对照, 再按 2.3.3 项下制备成茵陈阴性对照品溶液。

2.3.5 标准曲线制备 精密称取绿原酸对照品溶液 1, 2, 3, 4, 10, 20 mL, 至 20 mL 容量瓶中, 加甲

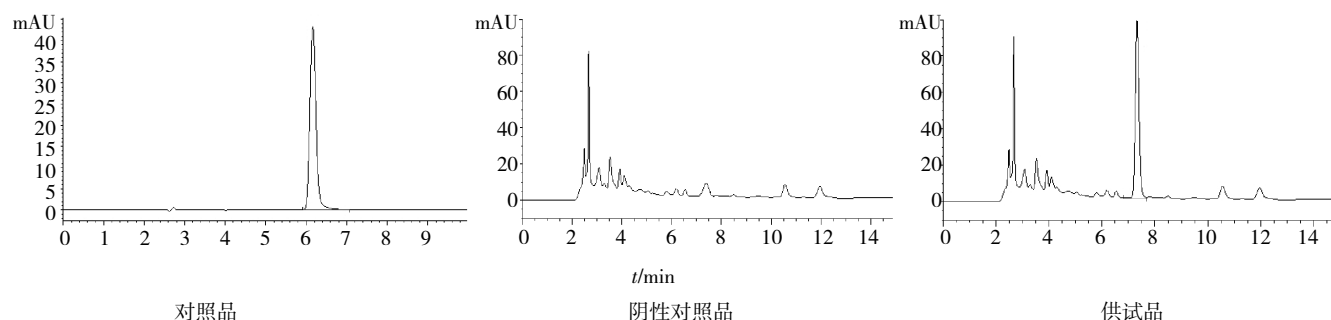


图 3 没食子酸 HPLC 图

Figure 3 HPLC chromatogram of gallic acid

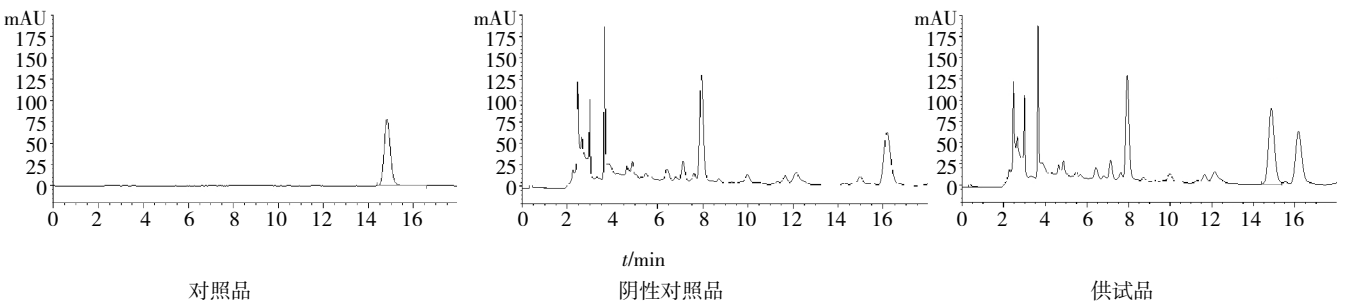


图 4 绿原酸 HPLC 图

Figure 4 HPLC chromatogram of chlorogenic acid

醇稀释至刻度。按 2.3.1 项下色谱条件下试验，测定各浓度的峰面积。以绿原酸对照品溶液浓度(X)为横坐标，以峰面积(Y)为纵坐标，进行线性回归计算，得线性方程为： $Y=37.492X+3.9448$ ，绿原酸浓度在 $10.12 \sim 202.4 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内呈良好的线性关系， $r = 0.9996$ 。

2.3.6 样品的测定 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 $10 \mu\text{L}$ ，注入高效液相色谱仪，记录色谱图，按外标法以峰面积计算。绿原酸对照品、供试品、阴性对照品的色谱见图 4。

2.4 精密度实验 精密吸取没食子酸对照品溶液 $5 \mu\text{L}$ 和绿原酸对照品 $10 \mu\text{L}$ ，分别按 2.2.1 及 2.3.1 项下的色谱条件连续进样 6 次，记录峰面积，没食子酸和绿原酸峰面积的 RSD 均为 0.2 %，结果表明该仪器精密度良好。

2.5 重现性实验 精密称取同一批复方叶下珠滴丸，分别按 2.2.3 及 2.3.3 项下供试品溶液的制备方法，各平行制备 6 份待测样品，分别吸取没食子酸供试液 $5 \mu\text{L}$ 和绿原酸供试液 $10 \mu\text{L}$ ，注入 HPLC 仪，依法测定含量。结果 6 份没食子酸样品平均含量为 $1.25 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ，RSD 为 0.6 %。6 份绿原酸样品的平均含量为 $0.30 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ，RSD 为 0.2 %。结果表明本方法重现性良好。

2.6 稳定性实验 分别精密称取复方叶下珠滴丸约 1.0 g 和 4.0 g，分别按 2.2.3 及 2.3.3 项下供试品溶液的制备方法配成待测样品，分别于 0，4，8，12 h 测定峰面积，没食子酸峰面积的 RSD 为 0.6 %，绿原酸峰面积的 RSD 为 0.8 %，结果表明待测样品在 12 h 内稳定性良好。

2.7 回收率试验 采取加样回收法，取同一批已知含量的供试品各 6 份，分别精密加入一定量的没食子酸和绿原酸对照品，分别按 2.2.3 及 2.3.3 项下供试品溶液的制备方法配成待测样品，测定含量，计算

回收率，结果见表 1 和表 2。

表 1 没食子酸加样回收率结果 (n=6)

Table 1 Results of recovery test of gallic acid					
已知量	加入量	测得量	回收率	平均值	RSD
$/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$/\%$	$/\%$	$/\%$
30.75	30.08	60.98	100.50	99.25	0.95
30.82	30.08	60.35	98.17		
31.08	30.08	61.09	99.77		
29.97	30.08	59.78	99.10		
30.42	30.08	59.95	98.17		
30.22	30.08	60.23	99.77		

表 2 绿原酸加样回收率结果 (n=6)

Table 2 Results of recovery test of chlorogenic acid					
已知量	加入量	测得量	回收率	平均值	RSD
$/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$/\%$	$/\%$	$/\%$
23.57	24.29	47.66	99.16	99.89	0.7
23.46	24.29	47.69	99.77		
23.15	24.29	47.59	100.62		
23.01	24.29	47.54	100.96		
23.76	24.29	47.91	99.42		
24.07	24.29	48.22	99.44		

2.8 稳定性试验根据 2010 年版《中国药典》原料药与药物制剂稳定性指导原则，取模拟上市包装中试样 3 批(批号：20120903，20120909，20120923)进行加速试验和长期试验考察。

2.8.1 加速试验 取模拟上市包装中试样 3 批，置室温(40 ± 2)℃、湿度 $75 \% \pm 5 \%$ 条件下贮藏，在 0，1，2，3，6 个月取样，照上述含量测定方法检测，3 批样品中没食子酸和绿原酸含量见表 3。制剂中没食子酸和绿原酸经加速试验 6 个月考察无明显变化，符合质量标准要求。

2.8.2 长期试验 取模拟上市包装样品，置室温(25 ± 2)℃，湿度 $60 \% \pm 10 \%$ 条件下贮藏，在 0，3，6，12 个月取样照上述含量测定方法检测，3 批样品

表 3 复方叶下珠滴丸加速试验结果

Table 3 Results of accelerated test for Compound *Phyllanthus urinaria* dripping pills

检测成分	样品批次	考察时间				
		0 月	1 月	2 月	3 月	6 月
没食子酸 /mg·g ⁻¹	20120903	1.2401	1.2419	1.2412	1.2407	1.2398
	20120909	1.26	1.2343	1.2363	1.2393	1.2386
	20120923	1.2453	1.2432	1.2413	1.2425	1.2331
绿原酸 /mg·g ⁻¹	20120903	0.3008	0.3102	0.3098	0.3111	0.2996
	20120909	0.2989	0.2978	0.3004	0.2967	0.2951
	20120923	0.3101	0.3009	0.3015	0.2954	0.2948

中没食子酸和绿原酸含量见表 4。结果表明，经室温留样长期试验 12 个月考察，制剂中没食子酸和绿原酸含量无明显变化，符合质量标准要求。

表 4 复方叶下珠滴丸长期试验结果

Table 4 Results of long-term test for Compound *Phyllanthus urinaria* dripping pills

检测成分	样品批次	考察时间			
		0 月	3 月	6 月	12 月
没食子酸 /mg·g ⁻¹	20120903	1.2403	1.2415	1.2409	1.2401
	20120909	1.2495	1.2477	1.2481	1.2394
	20120923	1.2399	1.2401	1.2398	1.2372
绿原酸 /mg·g ⁻¹	20120903	0.2966	0.3015	0.2951	0.2941
	20120909	0.3012	0.3011	0.2995	0.2974
	20120923	0.3185	0.3181	0.3192	0.3152

3 讨论

本研究对复方叶下珠滴丸中的叶下珠及半边莲进行薄层定性鉴别，试验显示其斑点圆整，分离度

好，易于鉴别，但滴丸样品的处理需除去制剂中的基质，否则 TLC 鉴别中斑点会模糊不清。

本研究最终确定没食子酸以甲醇 - 0.1 % 磷酸 (10 : 90) 为流动相，绿原酸以乙腈 - 0.4 % 磷酸 溶液 (10 : 90) 为流动相，其色谱分离效果最好，没食子酸和绿原酸出峰时间适中，且峰形对称，分离良好。

在考察滴丸的外观性状、溶解时限，微生物限度等项目的前提下，对复方叶下珠滴丸进行了加速试验和长期试验，制剂的外观和含量均符合质量标准要求，其药品对直接接触的容器无质量影响，说明本品质量稳定。

本试验建立了 HPLC 测定复方叶下珠滴丸中没食子酸和绿原酸含量的测定方法，为复方叶下珠滴丸的质量控制提供了科学的依据。

参考文献：

[1] 南京中医药大学. 中药大词典[M]. 上海：上海科学技术出版社，1997：1496.
[2] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编[M]. 北京：人民卫生出版社，1978：263.
[3] Thyagarajan SP, Subramanina S, Thirunalasundari T, et al. Effect of *Phyllanthus amarus* on chronic carriers of hepatitis B virus[J]. Lancet, 1988, 2(8614): 764-766.
[4] 冀德富, 郭东艳. 叶下珠提取物的质量控制研究[J]. 时珍国医国药, 2012, 12(23): 3045-3047.
[5] 徐晓梅, 谭本仁, 刘贤英, 等. 正交试验优选复方叶下珠的水提制备工艺[J]. 首都医药, 2011, 4(18): 55-56.
[6] 刘慧, 盛卫国, 彭松. 叶下珠药材 HPLC 指纹图谱的研究[J]. 中药材, 2007, 30(2): 150-153.

(编辑：邓响潮)

GC 法测定复方野菊花抗感软胶囊中广藿香醇的含量

刘煜洪¹, 罗丹丹¹, 温锦青¹, 陈海明¹, 蒋丽芸¹, 吴志坚², 苏子仁¹, 黄玉梅², 高明¹ (1. 广州中医药大学, 广东 广州 510006; 2. 广州市药材公司中药饮片厂, 广东 广州 510360)

摘要：目的 建立气相色谱法(GC)测定复方野菊花抗感软胶囊中广藿香醇的含量。方法 采用 GC 法，色谱柱为石英毛细管柱 007-225 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)；程序升温：起始温度 110 ℃，保持 7 min，以 100 ℃·min⁻¹ 的速率升温至 168 ℃，保持 7 min，再以 40 ℃·min⁻¹ 的速率升温至 190 ℃，保持 2 min，最后以 60 ℃·min⁻¹ 的

收稿日期：2014-03-18

作者简介：刘煜洪，男，硕士研究生，研究方向：中药新药开发研究。Email: 519390982@qq.com。通讯作者：高明，副教授，研究生导师，研究方向：中药鉴定及质量研究。Email: gaoming@gzucm.edu.cn。

基金项目：广东省科技计划项目(2012A080202002)。