

清肺止咳糖浆的质量标准研究

刘凯, 陈江, 李勃, 肖引, 陈芳, 马勇智

(武警陕西总队医院药剂科, 西安 710054)

摘要 目的: 制订清肺止咳糖浆的质量标准。方法: 采用薄层色谱法对方中麻黄、桔梗进行定性鉴别; 采用高效液相色谱法测定样品中黄芩苷的含量, 色谱条件为: Lichrospher C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) 柱为分析柱; 甲醇 - 0.2% 磷酸溶液 (44: 56) 为流动相; 流速 1 mL · min⁻¹; 检测波长 280 nm; 柱温 35 ℃。结果: 薄层色谱法鉴别方法专属性强, 阴性对照无干扰; 含量测定结果表明, 黄芩苷进样量在 0.06~0.45 μg 范围内与峰面积响应值呈良好线性关系 ($r=0.9998$), 平均回收率为 98.52% (RSD 为 0.61%, $n=6$)。结论: 本方法准确、简便, 专属性、重现性好, 可用于清肺止咳糖浆的质量控制。

关键词: 清肺止咳糖浆; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 黄芩苷; 质量标准

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)03-0480-03

Study on quality specification for Qingfei Zhike syrup

LIU Kai, CHEN Jiang, LI Bo, XIAO Yin, CHEN Fang, MA Yong-zhi

(Department of Pharmacology, Shaanxi Provincial Corps Hospital of Chinese People's Armed Police Force, Xi'an 710054, China)

Abstract Objective To set up the quality specification of Qingfei Zhike syrup. **Methods** Herba Ephedrae and Radix Platycodi in recipe were identified by TLC. The content of baicalin in samples was determined by HPLC. HPLC conditions were as follows: Lichrospher C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) column served as analytical column and methanol - 0.2% phosphoric acid (44: 56) as mobile phase at a flow rate of 1 mL · min⁻¹; the detection wavelength was 280 nm and column temperature 35 ℃. **Results** Herba Ephedrae and Radix Platycodi could be specifically identified by TLC; The amount of inlet baicalin had a good linearity with the response value of peak area in the range of 0.06-0.45 μg ($r=0.9998$), the average recovery of baicalin was 98.52% and RSD was 0.61% ($n=6$). **Conclusion** The method is reliable, simple, accurate and reproducible, and can be used for the quality control of Qingfei Zhike syrup.

Key words Qingfei zhike syrup; TLC; HPLC; baicalin; quality standard

清肺止咳糖浆是由麻黄、桔梗、黄芩、薄荷、杏仁、细辛、鱼腥草、苏子、川贝、生石膏、僵蚕、甘草、绿茶共 13 味中药经提取加工制成的糖浆剂, 为医院制剂, 具有清肺润燥、止咳化痰的功效, 适用于燥热蕴肺、痰黄而粘、不易咳出、久咳不止、喉燥咽痛、口渴头痛等症。方中麻黄宣肺平喘, 黄芩、石膏清泻肺胃之热, 三药合为辛凉之剂, 以宣肺、泻热为君药; 苏子、杏仁降气化痰、止咳平喘, 肃降肺气, 细辛助麻黄宣肺, 薄荷、鱼腥草散风清热、利咽以其为臣药, 川贝、甘草清热润肺、化痰止咳, 桔梗散风宜肺, 止咳平喘, 僵蚕祛风, 绿茶助黄芩以清肺胃之热, 以上五味为佐使药。为了控制产品质量, 按照医疗机构非标

制剂申报规定, 本研究建立了麻黄、桔梗的薄层鉴别方法, 对方中君药黄芩的主要有效成分黄芩苷进行了含量测定。黄芩苷的含量测定方法有分光光度法^[1]、薄层色谱法^[2]、高效液相色谱法^[3]等, 分光光度法只能测定黄芩总黄酮含量, 分离效果不佳, 而高效液相色谱法可测定单一成分黄芩苷含量, 质量控制指标更客观, 故本研究采用高效液相色谱法对黄芩苷进行了含量测定。

1 仪器和试剂

1.1 仪器 高效液相色谱仪 (Shimadzu LC-10A 输液泵, Shimadzu SPD-M10A 二极管阵列检测器, Class-VP 工作站); UV-1100 紫外可见分

光光度计(北京瑞利分析仪器公司), AS10200 超声波清洗器(奥特赛恩斯仪器有限公司, 天津)。

1.2 试药 对照药材桔梗(1028-200103)及对照品盐酸麻黄碱(714-9202)、黄芩苷(715-9204), 均购自中国药品生物制品检定所, 黄芩苷 HPLC 归一化法测定纯度为 98.23%; 硅胶 G(青岛海洋化工厂); 甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯; 清肺止咳糖浆(武警陕西总队医院自制, 批号 051012, 051015, 051018)。

2 方法与结果

2.1 薄层鉴别

2.1.1 麻黄的鉴别 取本品 30 mL, 用氨试液调 pH 至 9~10 用氯仿提取 2 次, 每次 20 mL, 合并氯仿层, 置水浴上蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 溶解, 即得供试品溶液; 取缺麻黄阴性样品, 同法制成阴性样品溶液; 另取盐酸麻黄碱对照品, 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^[4]试验, 吸取对照品溶液 2 μ L, 供试品溶液 10 μ L, 阴性样品溶液 10 μ L, 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-甲醇-氨水(20:5:0.5)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以茚三酮试液, 在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。样品色谱中, 在与对照品色谱相应位置上, 显相同颜色的斑点。阴性无干扰。结果见图 1-A。

2.1.2 桔梗的鉴别^[5] 取本品 30 mL, 蒸干, 残留物加氯仿 30 mL, 盐酸 5 mL, 回流 2 h, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加氯仿 2 mL 溶解, 即得供试品溶液; 取缺桔梗阴性样品, 同法制成阴性样品溶液; 另取桔梗对照药材 2 g 加水 100 mL, 煎煮 20 min 过滤, 取滤液, 按上述供试品溶液相同制备方法制得对照药材溶液; 照薄层色谱法^[4]试验, 吸取上述 3 种溶液各 5 μ L, 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-丙酮-环己烷(4:4:8)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外灯(365 nm)下检视。样品色谱中, 在与对照药材色谱相应位置上, 显相同颜色的荧光斑点。阴性无干扰。结果见图 1-B。

2.2 含量测定

2.2.1 溶液制备

2.2.1.1 对照品溶液 精密称取在 60 $^{\circ}$ C 减压干燥 4 h 的黄芩苷对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 30 μ g 的溶液, 即得。

2.2.1.2 供试品溶液 精密吸取本品 5 mL, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇约 80 mL, 超声处理(功率

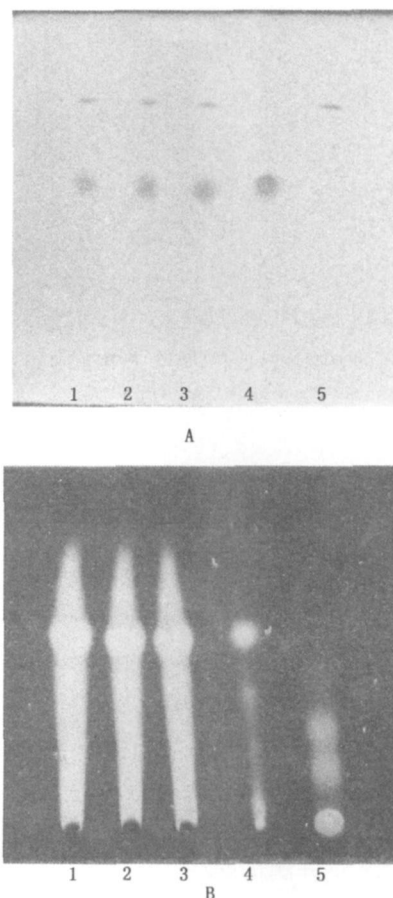


图 1 麻黄碱(A)和桔梗(B)TLC 色谱图

Fig 1 TLC chromatograms of ephedrine(A) and Radix Platycodis(B)

A: 1~3 样品(sample) 4 麻黄碱对照品(ephedrine reference substance) 5 缺麻黄阴性样品(negative sample without Herba Ephedrae)

B: 1~3 样品(sample) 4 桔梗对照药材(Radix Platycodi control medicinal material) 5 缺桔梗阴性样品(negative sample without Radix Platycodi)

100 W, 频率 50 kHz) 20 min 放冷至室温, 再加甲醇至刻度, 摇匀, 取上清液, 用 0.45 μ m 的滤膜滤过, 取滤液作为供试品溶液。

2.2.1.3 阴性样品溶液 按处方配比取除黄芩外的其他药材, 制成缺黄芩的阴性样品, 按供试品溶液制备方法制备阴性样品溶液。

2.2.2 色谱条件^[4]与系统适用性试验 色谱柱: Li-chrospher C₁₈柱(4.6 mm $\times$ 150 mm, 5 μ m), 柱温 35 $^{\circ}$ C; 流动相: 甲醇-0.2% 磷酸溶液(44:56), 流速 1 mL $\cdot$ min⁻¹; 检测波长 280 nm; 进样量 10 μ L。理论板数按黄芩苷峰计算应不低于 2500。色谱图见图 2。

2.2.3 干扰性试验 将阴性样品溶液按本文色谱条件注入高效液相色谱仪, 结果表明, 样品中其他成分对黄芩苷的测定无干扰。见图 2-C。

2.2.4 线性关系考察 精密称取黄芩苷对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含黄芩苷 29.86 μ g 的溶液, 精密吸取该溶液 2.5 8 10 12 15 μ L 进样, 测定黄

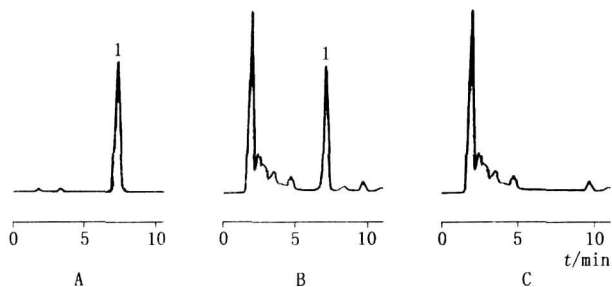


图 2 对照品 (A)、样品 (B)及阴性样品 (C)HPLC 色谱图

Fig 2 HPLC chromatograms of reference substance (A), sample (B) and negative sample without Radix Scutellariae (C)

1 黄芩苷 (baicalin)

芩苷峰面积,以黄芩苷峰面积 Y 为纵坐标,进样量 X 为横坐标,进行线性回归,得线性方程:

$$Y = 3.003 \times 10^6 X - 5.454 \times 10^4 \quad r = 0.9998$$

结果表明,黄芩苷进样量在 $0.06 \sim 0.45 \mu\text{g}$ 范围内线性关系良好。

2.2.5 精密度试验 精密吸取对照品溶液 $10 \mu\text{L}$,注入高效液相色谱仪,连续进样测定 6 次,以黄芩苷峰面积计算 $\text{RSD}(n=6)$ 为 0.54% 。

2.2.6 稳定性试验 取同一份供试品溶液,分别于 $0, 3, 6, 9, 12, 15 \text{ h}$ 进样测定黄芩苷峰面积,计算 $\text{RSD}(n=6)$ 为 0.50% ,表明供试品溶液在 15 h 内基本稳定。

2.2.7 重复性试验 取同一批样品 (051012 批) 6 份,按“2.2.1.2”项下方法制备供试品溶液,进样测定,求得 6 份样品中黄芩苷含量平均值 ($n=6$) 为 $0.496 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $\text{RSD} = 0.82\%$ 。

2.2.8 回收率试验 取已测知含量的样品 (051012 批),精密称取 6 份,每份 2.5 mL ,分别置 100 mL 量瓶中,精密加入黄芩苷对照品适量,按“2.2.1.2”项下方法制备溶液,进样测定,计算回收率。结果见表 1,平均回收率 ($n=6$) 为 98.52% , RSD 为 0.61% 。

2.2.9 含量测定 取 3 批样品,分别按“2.2.1.2”项下方法制备供试品溶液,进样测定,以外标法计算含量。结果批号为 051012, 051015, 051018 的样品中黄芩苷含量分别为 $0.497, 0.564, 0.526 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

3 讨论

3.1 本文采用 TLC 法对清肺止咳糖浆中的麻黄、桔梗^[5]进行了定性鉴别,方法专属性强,重复性好,色谱清晰,阴性对照无干扰。

3.2 本研究曾尝试建立鱼腥草、薄荷的 TLC 鉴别方法,因鱼腥草的主斑点分离度不好;薄荷的主斑点与色谱中其它斑点相比,颜色过浅,且与相邻斑点的分离度不够好,故未列入正文。

表 1 回收率试验数据

Tab 1 Experimental data of recovery rate

编号 (No.)	样品中黄芩苷 的量 (baicalin amount in sample) /mg	对照品加入量 (addition of reference substance) /mg	测得量 (measured value) /mg	回收率 (recovery) /%
1	1.475	1.92	3.376	99.01
2	1.475	1.81	3.259	98.56
3	1.475	1.29	2.747	98.60
4	1.475	1.12	2.568	97.60
5	1.475	1.94	3.378	98.09
6	1.475	2.37	3.827	99.24

3.3 黄芩为方中的君药,其有效成分为黄芩苷等,现代药理研究表明,黄芩苷有抗菌、抗炎、抗病毒、抗过敏、解毒等作用^[6],是本品中的主要有效成分之一,故选择测定黄芩苷的含量作为其含量控制指标。根据 3 批样品测定结果,暂规定清肺止咳糖浆每 1 mL 含黄芩按黄芩苷 ($\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_{11}$) 计算,不得低于 0.40 mg 。该方法简便易行,测定结果重复性好,精密度高,专属性强,适用于清肺止咳糖浆的质量控制。

参考文献

- 1 ZHANG Jian- chun (张建春), FENG Xiang- ting (冯向庭), CHEN Ding- ji (陈鼎继), et al. Determine the baicalin content of Xiao- er- an- jing pill by double wave length spectrophotometry (双波长分光光度法测定小儿安金丸中黄芩苷的含量). *North-west Pharm J* (西北药学杂志), 1997, 12(1): 6
- 2 GAO Li- xia (高立霞), WANG Chuan- jie (王传杰), LI Jie (李洁). Determine the baicalin content of Jie- fei- sang- qing tablet by TLC method (薄层色谱法测定清肺桑芩片中黄芩苷的含量). *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2000 11(4): 305
- 3 WANG X iao- juan (王晓娟), CHEN Bing (程斌), CAO Hong (曹红), et al. Determine the baicalin content of Shi- re granule by HPLC method (高效液相色谱法测定湿热颗粒中黄芩苷的含量). *Pharm J PLA* (解放军药学学报), 2003 19(3): 202
- 4 ChP (中国药典). 2005. Vol I (一部): 211
- 5 MIAO M ing- san (苗明三), LI Zheng- guo (李振国). Quality Control Technique of Modern Useful Traditional Chinese Drug (现代实用中药质量控制技术). Beijing (北京): People's Medical Publishing House (人民卫生出版社), 1997 248
- 6 ZHANG Jian- chun (张建春), ZHANG Hua (张华), SHI Y ing (施瑛), et al. Recent developments of the baicalin (黄芩苷的研究近况). *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2005, 16(3): 247

(本文于 2009 年 1 月 7 日修改回)