

文章编号: 1008-9926(2009)05-0401-03 中图分类号: R927. 2 文献标识码: A

小儿鼻炎片的质量标准研究

曹 红, 付 聪, 邢俊波, 陈玉敏, 水彩红, 姜春来, 胡 丹

(总后勤部卫生部药品仪器检验所 北京 100071; 解放军第 307 医院 药械科 北京 100071)

摘 要:目的 建立小儿鼻炎片的质量标准。方法 采用薄层色谱法对小儿鼻炎片中的白芷、升麻、和防风等药材进行了薄层色谱鉴别;采用高效液相色谱法测定了君药藁本药材中阿魏酸的含量,色谱柱为 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (250mm ×4.6mm, 5μm)分析柱;流动相:甲醇-0.1%磷酸溶液 (25:75);流速:1.0mL/min;检测波长:320nm;柱温:40℃。结果 薄层色谱法可鉴别出该制剂中的白芷、升麻、和防风。阿魏酸在 0.028 8~5.67μg 范围内有良好的线性关系, $r=0.999\ 5$, 平均回收率为 100.6%, RSD 为 1.54% ($n=6$)。结论 该方法准确、灵敏、重复性好,能有效地控制小儿鼻炎片的质量。

关键词: HPLC; 小儿鼻炎片; 阿魏酸; TLC

Study on Quality Standard of Xiaerbiyan Pian

CAO Hong, FU Cong, XING Jun-Bo, CHEN Yu-Min, SHU I Cai-Hong, JIANG Chun-Lai, HU Dan

(Institute for Drug and Instrument Control, Health Dept, GLD of PLA, Beijing 100071 China)

(Department of Pharmacy, Hospital 307 of PLA, Beijing 100071 China)

ABSTRACT: **Aim** To establish a quality standard for Xiaerbiyan Pian. **Methods** Radix Angelicae Dahuricae, Rhizoma Cimicifugae and Radix Saposhnikovia were identified by TLC. The content of Ferulic acid was determined by HPLC. Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (250mm ×4.6mm, 5μm) was used as the chromatographic column and methanol-0.1% phosphatic acid solution (25:75) as the mobile phase. The detection wavelength was 320nm; the flow rate was 1.0mL/min; the column temperature was 40℃. **Results** Radix Angelicae Dahuricae, Rhizoma Cimicifugae and Radix Saposhnikovia were identified by TLC. Ferulic acid showed a good linear relationship in a range of 0.028 35~5.67μg, $r=0.999\ 5$. The average recovery was 100.63% ($RSD=1.54\%$), $n=6$. **Conclusion** This method is simple with good reproducibility and can be used for quality control of Xiaerbiyan Pian.

KEY WORDS: HPLC; Xiaerbiyan Pian; Ferulic acid; TLC

小儿鼻炎片是由藁本、白芷、防风、升麻、苍耳子(去刺炒)、蓼大青叶、蒲公英、甘草 8 味中药加工制成的复方制剂,具有散风清热的功效,用于治疗小儿慢性鼻炎。该复方制剂原标准收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》(中药成方制剂)第五册,原有质量标准中仅有性状、鉴别(白芷)和检查项,不能全面的控制药品的质量。为进一步控制药品的内在质量,保证临床用药安全有效,本文在原有质量标准基础上,增加了升麻、防风等药材的薄层色谱鉴别;并采用 HPLC 法测定了小儿鼻炎片中阿魏酸的含量,结果准确可靠。

1 仪器与试药

1.1 仪器 HP-1050 高效液相色谱仪,四元梯度

泵, DAD 检测器, HP-1100 自动进样器, HP 化学工作站 (均为美国惠普公司)。

1.2 试药 小儿鼻炎片 (规格: 0.3g/片, 中国北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂, 批号: 6120782, 6120783, 6120784)。阿魏酸对照品、白芷对照药材、升麻对照药材、防风对照药材 (均由中国药品生物制品检定所提供); 甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

2 薄层色谱鉴别

2.1 白芷 取本品 15 片, 研细, 加乙醚 20mL, 浸泡 1h, 时时振摇, 滤过, 滤液挥干, 残渣加乙酸乙酯 1mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取白芷对照药材 0.5g, 加乙醚 10mL, 同法制成对照药材溶液。照文献^[1]

基金项目: 国家药典委员会“提高国家药品标准行动计划”

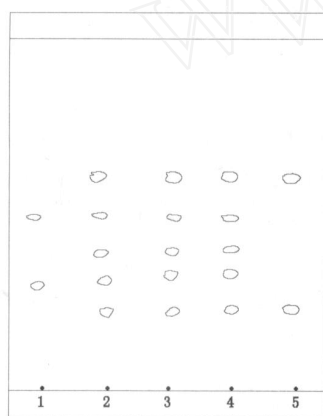
作者简介: 曹 红 (1963-), 女, 山东济南人, 主任药师。研究方向: 药物分析。Tel: (010) 66949080; Email: caohong66699@sina.com

薄层色谱法试验,吸取上述 2 种溶液各 10 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚 (30~60 $^{\circ}$ C)-乙酸乙酯 (3:2) 为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯 (365nm) 下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,阴性对照试验未见干扰。见图 1。

2.2 升麻 取本品 5g,研细,加 1%碳酸氢钠溶液 50mL,加热回流提取 2h,滤过,滤液用稀盐酸调节 pH2~3,用乙醚提取 3 次 (20、15、15mL),合并乙醚提取液,挥干,残渣加甲醇 1mL 使溶解,作为供试品溶液。另取升麻对照药材 3g,同法制成对照药材溶液。再取阿魏酸对照品,加甲醇制成 1mg $\cdot$ mL $^{-1}$ 的溶液,作为对照品溶液。照文献^[1]薄层色谱法试验,吸取上述 3 种溶液各 5 μ L,分别点于同一硅胶 G

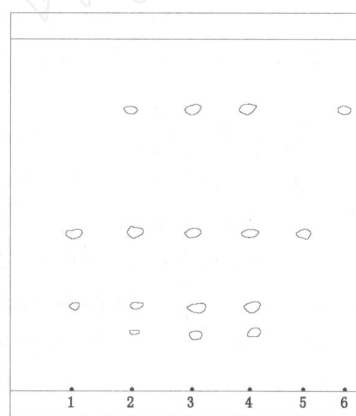
薄层板上,以苯-乙酸乙酯-甲酸 (4:1:0.1) 为展开剂,展开,取出,晾干,喷以新配制的 1%三氯化铁和 1%铁氰化钾 (1:1) 的混合溶液。供试品色谱中,在与对照药材和对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照试验未见干扰。见图 2。

2.3 防风 取本品 7g,研细,加丙酮 50mL,超声处理 20min,滤过,滤液蒸干,残渣加乙醇 1mL 使溶解,作为供试品溶液。另取防风对照药材 1g,同法制成对照药材溶液。照文献^[1]薄层色谱法试验,吸取上述 2 种溶液各 10 μ L,分别点于同一硅胶 GF₂₅₄薄层板上,以三氯甲烷-甲醇 (4:1) 为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯 (254nm) 下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰。见图 3。



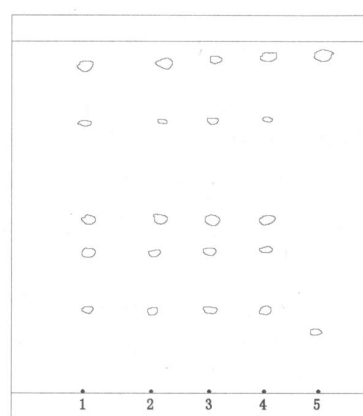
1 阴性对照 2~4 样品 5 白芷药材

图 1 白芷薄层色谱图



1 升麻药材 2~4 样品 5 阿魏酸 6 阴性对照

图 2 升麻薄层色谱图



1 防风药材 2~4 样品 5 阴性对照

图 3 防风薄层色谱图

Fig 1 TLC chromatogram of Radix Angelicae Dahuricae Fig 2 TLC chromatogram of Rhizoma Cimicifugae Fig 3 TLC chromatogram of Radix Saposhnikovia

3 含量测定

3.1 色谱条件 色谱柱: Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (4.6mm $\times$ 250mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-0.1%磷酸溶液 (25:75); 流速: 1.0mL/min; 检测波长: 320nm; 柱温: 40 $^{\circ}$ C, 进样量 10 μ L。理论板数按阿魏酸峰计算不得少于 2500。

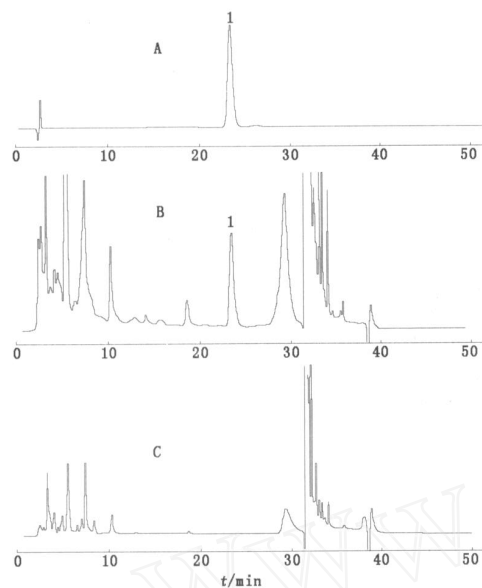
3.2 溶液的制备 (1)对照品溶液 取阿魏酸对照品适量,精密称定,加甲醇制成 25 μ g $\cdot$ mL $^{-1}$ 的溶液,即得。(2)供试品溶液 取重量差异项下的本品,研细,取约 1g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50%乙醇 25mL,密塞,称定重量,加热回流提取 1h,放冷,再称定重量,用 50%乙醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。(3)阴性对照样品 按处方比例称取除藁本、升麻以外的其余药材,按制备工艺制成缺藁本、升麻药材的阴性对照样品。

3.3 专属性试验 照 3.1 项下方法测定,比较了供试品溶液、阿魏酸对照品溶液、阴性对照样品溶液的色谱图,结果样品中阿魏酸峰与其他组分色谱峰能达到基线分离,阴性对照液中色谱峰对测定无干扰,见图 4。

3.4 线性关系的考察 精密称取阿魏酸对照品适量,加甲醇制成含阿魏酸 0.567mg $\cdot$ mL $^{-1}$ 的对照品储备液,精密吸取该对照品储备液适量,以甲醇按不同比例稀释,得阿魏酸浓度分别为 2.880、5.670、11.34、22.68、28.35、56.70、113.4、170.1、567.0 μ g $\cdot$ mL $^{-1}$ 的对照品溶液,分别取上述溶液各 10 μ L 进样分析,以进样量 (μ g) 为横坐标 (X),峰面积为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线,进行计算,得回归方程:

$$Y = 5.060.1821X - 278.4131, r = 0.9995$$

结果表明阿魏酸在 0.0288~5.67 μ g 范围内有良好的线性关系。



A 对照品 B 供试品 C 阴性对照 1 阿魏酸

图 4 HPLC 色谱图

Fig 4 HPLC chromatograms

3.5 重复性试验 取同一批次(批号:6120782)的样品 1g,精密称定,平行 6 份,按 3.2 项下方法制备成供试品溶液,在上述色谱条件下分别进样 10 μ L,测得阿魏酸的含量为 0.470 6mg $\cdot$ g $^{-1}$,RSD 为 0.56%。结果表明此法重复性良好。

3.6 稳定性试验 取重复性试验中的 1 份供试品溶液,于 0、1、4、6、9h 测定阿魏酸的峰面积,结果供试品溶液在 9h 内峰面积基本不变,RSD 为 0.35%,可见供试品溶液在 9h 内稳定。

3.7 加样回收率试验 称取已知含量的同一(批号:6120782)的小儿鼻炎片样品 0.5g,精密称定 6 份,分别精密加入阿魏酸对照品 0.253mg,按 3.2 项下方法制备,按上述色谱条件进样分析,计算回收率,结果见表 1。

表 1 加样回收率试验测定结果

Tab 1 The result of recovery test

取样量 (g)	样品量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	$\bar{x}$ (%)	RSD (%)
0.5078	0.2390	0.253	0.4960	101.58		
0.5058	0.2380	0.253	0.4920	100.40		
0.5069	0.2385	0.253	0.4918	100.12	100.63	1.54
0.5031	0.2368	0.253	0.4980	103.24		
0.5051	0.2377	0.253	0.4890	99.33		
0.5091	0.2396	0.253	0.4904	99.13		

3.8 样品测定 取小儿鼻炎片样品 3 批,依上述方法制备对照品溶液和供试品溶液,依相同色谱条件

测定,以外标法计算阿魏酸的含量,结果见表 2。根据 3 批小儿鼻炎片样品的测定结果,暂定本品每片含藁本以阿魏酸($C_{40}H_{40}O_4$)计,不得少于 0.1mg。

表 2 小儿鼻炎片样品含量测定结果($n=2$)Tab 2 Determination of Ferulic acid in the preparation($n=2$)

样品批号	阿魏酸(mg $\cdot$ g $^{-1}$)	阿魏酸(mg/片)
6120782	0.4706	0.1412
6120783	0.4828	0.1448
6120784	0.4847	0.1454

4 讨论

4.1 色谱柱的选择 试验中比较了不同商品类型的色谱柱 Agilent ZORBAX SB-C₁₈ (4.6mm $\times$ 250mm, 5 μ m) 分析柱、SHIMADZU VP-ODS (4.6mm $\times$ 250mm, 5 μ m) 分析柱及 Agilent ZORBAX EXTEND-C₁₈ (4.6mm $\times$ 250mm; 5 μ m) 分析柱,结果表明本法适用于 C₁₈ 色谱柱。

4.2 流动相的选择 试验比较了甲醇-0.1%磷酸水(30:70)、甲醇-0.1%磷酸水(28:72)、甲醇-0.1%磷酸水(27:73)、甲醇-0.1%磷酸水(26:74)及甲醇-0.1%磷酸水(25:75)等系统,最终确定了甲醇-0.1%磷酸水(25:75)作为流动相。因小儿鼻炎片样品成分复杂,阿魏酸测定的流动相中甲醇比例较低,不利于其他杂质的排出,为了延长色谱柱的寿命,在阿魏酸色谱峰后采用了高浓度的甲醇将其他杂质冲出色谱柱。

4.3 提取方法的选择 试验考察了超声提取 30min、回流提取 1h、冷浸 12h 等方法,结果表明,加热回流提取结果高于超声处理,考察了加热回流提取 0.5、1、2h 对阿魏酸含量的影响,结果确定采用加热回流 1h 作为本文的提取方法。

4.4 提取溶剂的选择 本文考察了用甲醇、50%甲醇、乙醇、50%乙醇溶液为提取溶剂加热回流提取 1h,按照正文含量测定项下方法进行测定,结果表明 50%乙醇为提取溶剂时,阿魏酸的峰与其他物质的峰分离较好,峰形较好,最终确定 50%乙醇溶液作为提取溶剂。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京:化学工业出版社, 2005. 50; 59; 69; 102; 111; 244; 253; 263; B
- [2] 曹红,靳守东,刘云. HPLC 法梯度洗脱测定复方决明子中阿魏酸的含量[J]. 中国药品标准, 2004, 5(3): 40

(收稿日期: 2009-05-14; 修回日期: 2009-07-23)

(本文编辑 魏萍)