

清咽利咽合剂的质量标准研究

郑弘, 许红玮

(河南中医学院第一附属医院药学部, 郑州 450000)

[摘要] 目的:建立清咽利咽合剂质量标准。方法:采用薄层色谱法(TLC)对赤芍、黄芩进行定性鉴别,以高效液相色谱法(HPLC)对主药金银花中绿原酸进行含量测定。色谱柱为 Agilent ZORBAX Eclipse SB-Aq C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相乙腈-0.4%磷酸(7:93);流速 1.0 mL·min⁻¹;柱温 30 ℃;检测波长 327 nm。结果:清咽利咽合剂中赤芍、黄芩的 TLC 色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。绿原酸含量测定线性关系良好,回归方程 $Y = 105\,520X - 9\,990$, $r = 0.999\,9$ 。绿原酸的平均回收率为 100.39%, RSD 1.87%。结论:本方法简便、准确、灵敏、重现性好,可作为清咽利咽合剂质量控制。

[关键词] 清咽利咽合剂;绿原酸;高效液相色谱;薄层色谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2011)02-0091-02

清咽利咽合剂为我院耳鼻喉科用制剂,由金银花、赤芍、桔梗、玄参、黄芩等 11 味中药加工提取的口服中药制剂,具有清热利咽、活血、消肿止痛等功效。主治肺胃蕴热、复感风热邪毒所致急性慢性咽喉炎。在临床使用二十余年,疗效显著,颇受医生和患者的欢迎,近几年该制剂年平均销售量 3 万余瓶。且制剂君臣佐使组方严谨,制剂工艺科学规范。为控制产品质量,确保临床疗效,本研究建立了黄芩、赤芍的薄层色谱鉴别,并采用高效液相色谱法对主药金银花的主成分绿原酸进行了含量测定。

1 材料

1.1 仪器 高效液相色谱仪(Shimadzu, 10ATVP 型二元泵, SIL-20A 自动进样器, SPD-M10Avp 型检测器), CLASS-vp 色谱工作站。sartorius cp225D 型电子天平定量毛细管,自动点样器。

1.2 试药 芍药苷对照品(批号 110736-200732);黄芩苷对照品(批号 110715-200514);绿原酸对照品(批号 110753-200413)均由中国药品生物制品检定所提供;硅胶 G(青岛海洋化工厂),乙腈为色谱纯,其他均为分析纯。清咽利咽合剂由河南中医学院第一附属医院制剂室提供,(河南省食品药品监督管理局制剂注册批件第 2004Z01370 号,批号(100223-1, 100223-2, 100223-3))。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

2.1.1 赤芍的鉴别 取本品 10 mL, 蒸干,残渣加乙醇 2 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取芍药苷对照品,加乙醇制成 1 g·L⁻¹ 的溶液,作为对照品溶液。按处方要求制备缺赤芍的阴性供试品,同供试品液的制备方法,制成阴性对照液。吸取上述供试品液、对照品溶液,及阴性对照液各 10 μL, 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-醋酸乙酯-甲醇-甲酸(40:5:10:0.2)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 香草醛硫酸溶液,105 ℃ 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同的蓝紫色斑点,阴性对照液则无。

2.1.2 黄芩的薄层鉴别 取本品 20 mL, 加 HCl 调 pH 至 2, 加乙酸乙酯振摇提取 2 次, 每次 20 mL, 合并醋酸乙酯萃取液, 蒸干, 残渣加甲醇 2 mL, 使溶解, 作为供试品溶液。按处方要求制备缺黄芩的阴性供试品, 同供试品液的制备方法, 制成阴性对照液。另取黄芩苷对照品用甲醇制成 2 g·L⁻¹ 的溶液, 作为对照品溶液。照《中国药典》薄层色谱法实验。吸取上述供试品液、对照品溶液, 及阴性对照液各 2 μL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以乙酸丁酯-甲酸-水(7:4:3)的上层液作为展开剂, 展开。取出晾干, 喷以 2% 三氯化铁乙醇溶液显色。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同的橘黄色斑点, 阴性对照液则无。

[收稿日期] 2010-06-18

[第一作者] 郑弘, 本科, 主管药师, 研究方向: 中药制剂等,
Tel: 13623822007, E-mail: zh0376@163.com

2.2 绿原酸的含量测定

2.2.1 色谱条件 Agilent ZORBAX Eclipse SB-Aq C_{18} 柱(4.6 mm × 250 mm 5 μ m);流动相乙腈-0.4% 磷酸(7:93);流速 1 mL·min⁻¹;柱温 30 $^{\circ}$ C;检测波长 327 nm;理论塔板数按绿原酸计算不低于 2 000。

2.2.2 供试品溶液 精密量取样品 5 mL 置 50 mL 量瓶中。用 50% 甲醇稀释至刻度定容,摇匀,用

0.45 μ m 微孔滤膜过滤,取得续滤液,即得。

2.2.3 对照品溶液 精密称取绿原酸对照品 2 mg,置于 50 mL 棕色量瓶中,加 50% 的甲醇使溶解,定容至刻度,制成每 0.04 g·L⁻¹ 的绿原酸储备液。

2.2.4 阴性对照溶液 取缺金银花的阴性对照溶液,按供试品溶液制备方法制备,将上述配制的 3 种溶液分别进样 10 μ L,测定,阴性对照无干扰(图 1)。

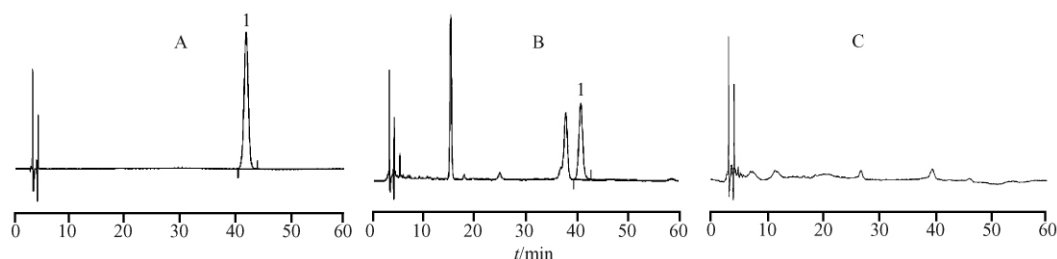


图 1 清咽利咽合剂 HPLC 色谱图

A. 对照品;B. 供试品;C. 阴性对照;1. 绿原酸

2.2.5 线性关系考察 分别精密吸取对照品溶液 2.0, 5.0, 8.0, 10.0, 12.0, 16.0 μ L,按上述色谱条件进样测定,以峰面积积分值 Y 为纵坐标,对照品进样量 X (μ g) 为横坐标,绘制标准曲线,得其回归方程 $Y = 105\,520X - 9\,990$, $r = 0.999\,9$,结果表明绿原酸在 0.08 ~ 0.64 μ g 线性关系良好。

2.2.6 精密度试验 精密吸绿原酸取对照品溶液 10 μ L,连续重复进样 6 次,按上述色谱条件测定峰面积,结果 RSD 0.75%。表明仪器精密度良好。

2.2.7 重复性试验 精密量取同一批号清咽利咽合剂(100223-I)。分别按 2.2.2 项下方法平行制备供试品溶液 6 份,进样测得峰面积,计算绿原酸含量。结果绿原酸平均质量浓度为 0.35 g·L⁻¹,RSD 0.4%。表明本方法重复性良好。

2.2.8 稳定性试验 取供试品溶液,每隔 2 h 进样 1 次(10 μ L),共进样 6 次,按上述色谱条件分别测定,峰面积积分值 RSD 0.6% ($n = 6$),表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.2.9 加样回收率试验 取已知含量的供试品(批号 100223)1.00 mL,精密加入一定量绿原酸对照品,按供试品溶液制备方法制备,依法测定,计算回收率,见表 1。

2.2.10 样品含量测定 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液 10 μ L,注入液相色谱仪,测定,以外

标法计算含量,结果为 $(0.361\,6 \pm 0.007)$ g·L⁻¹。

表 1 清咽利咽合剂中绿原酸加样回收率试验

样品中含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1.100 2	1.096 8	2.195 0	99.82	100.39	1.87
1.100 2	1.096 8	2.212 0	101.37		
1.100 2	1.096 8	2.213 5	101.50		
1.100 2	1.096 8	2.210 5	101.23		
1.100 2	1.096 8	2.214 5	101.60		
1.100 2	1.096 8	2.162 0	96.81		

3 讨论与结果

绿原酸的含量测定试验参考文献^[1-2]金银花项下绿原酸的含量测定方法,采用流动相乙腈-0.4% 磷酸(13:87),分离效果不理想。后改流动相乙腈-0.4% 磷酸(7:93),结果绿原酸可以分离不受其他组分干扰,分离效果好,理论塔板数符合相关要求。故以此配比为流动相进行含量测定,重复性好,方案可行。

〔参考文献〕

- [1] 中国药典.一部[S].2005:152.
- [2] 于天杰,张玲昂.咽炎合剂的质量控制[J].中国实用医药 2009 4(26):151.

〔责任编辑 顾雪竹〕