

清咽颗粒的质量标准研究

李志金, 杨存爱

(河北省邢台市眼科医院, 河北 邢台 054001)

[摘要] 目的: 建立清咽颗粒质量控制方法。方法: 采用薄层色谱法(TLC)对制剂中黄芩、山麦冬、金银花进行定性鉴别; 采用高效液相色谱法对制剂中的君药黄芩中的黄芩苷进行含量测定。结果: 薄层色谱可鉴别出金银花、黄芩、山麦冬的特征斑点, 而阴性对照无干扰; 黄芩苷在 $18 \sim 66 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内呈线性关系($r = 0.9994$, $n = 5$), 平均回收率为 100.8% ($\text{RSD} 0.48\%$, $n = 9$)。结论: 本方法操作简便, 结果准确、可靠, 可用于清咽颗粒的质量控制。

[关键词] 清咽颗粒; 高效液相色谱法; 薄层色谱; 黄芩苷; 质量控制

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)08-0081-03

清咽颗粒是常用制剂, 由金银花、南沙参、山麦冬、玄参、石斛、桔梗、黄芩、薄荷、甘草等多味中药组成, 经多年的临床实践证实, 该制剂具有养阴清热, 解毒利咽, 利气化痰, 生津降火之功效, 临床主要用于急、慢性咽炎的治疗, 疗效确切。为有效控制该制剂的质量, 快速鉴别药材的真伪, 本文采用薄层色谱法(TLC)对方剂中的金银花、黄芩、山麦冬分别进行了定性鉴别; 采用高效液相色谱法对制剂中的君药黄芩中的有效成分黄芩苷进行含量测定。为控制其质量, 提供依据。

1 材料

大连依利特高效液相色谱仪, 十八烷基硅烷键合硅胶色谱柱($4.6 \text{ mm} \times 200 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$); P230 高压恒流泵, UV230 紫外-可见检测器; ZF-I 三用紫外分析仪(上海顾村电光仪器厂); 清咽颗粒(邢台市眼科医院制剂室自制, 批号 080924, 081213, 090316); 绿原酸对照品(批号 110753-200413)、黄芩苷对照品(批号 110715-200212), 山麦冬对照药材(批号 1136-200001)均由中国药品生物制品检定所提供。甲醇为色谱纯, 所用试剂均为分析纯。

2 薄层鉴别

2.1 黄芩^[1-2] 取本品 10 g, 研细, 加甲醇 40 mL, 超声 15 min, 过滤, 滤液蒸干, 残渣加水 20 mL 溶解, 用稀盐酸调 pH 至 2, 用乙酸乙酯振摇提取 2 次, 每

次 20 mL, 合并乙酸乙酯提取液, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液; 另取黄芩苷对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 2 mg 的溶液, 作为对照品溶液; 取除黄芩以外的药材, 按样品制备工艺制成阴性对照样品, 再按供试品溶液的制备方法同法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法试验^[3], 吸取上述 3 种溶液各 10 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)的上层液为展开剂, 展开, 取出, 晾干。喷以 2% 三氯化铁乙醇溶液, 结果供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 而阴性对照液色谱中无相应斑点。

2.2 山麦冬^[3] 取本品 10 g, 加水 20 mL 溶解, 加盐酸 3 mL, 置水浴加热 1 h, 放冷, 离心, 过滤, 滤液加乙醚振摇提取 2 次, 每次 20 mL, 分取乙醚液水浴蒸干, 残渣加三氯甲烷 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液; 另取山麦冬对照药材 1 g, 加水 60 mL, 煎煮 30 min, 滤过, 滤液浓缩至约 10 mL, 加盐酸 3 mL, 置水浴中加热 1 h, 放冷, 加乙醚振摇提取 2 次, 每次 20 mL, 分取乙醚液, 水浴蒸干, 残渣加三氯甲烷 1 mL 使溶解, 作为对照药材溶液; 取除麦冬以外的药材, 按照样品制备工艺制成阴性对照样品, 再按照供试品溶液的制备方法同法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法试验^[3], 吸取上述 3 种溶液各 3 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-丙酮(4:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 在 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰。结果, 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, 而阴性对照液色谱中无相应斑点。

[收稿日期] 2010-04-27

[通讯作者] 李志金, 主管药师, 邢台眼科医院制剂室, 主要从事药品质量管理。Tel: (0319) 3329689, E-mail: Lzj3329689@163.com

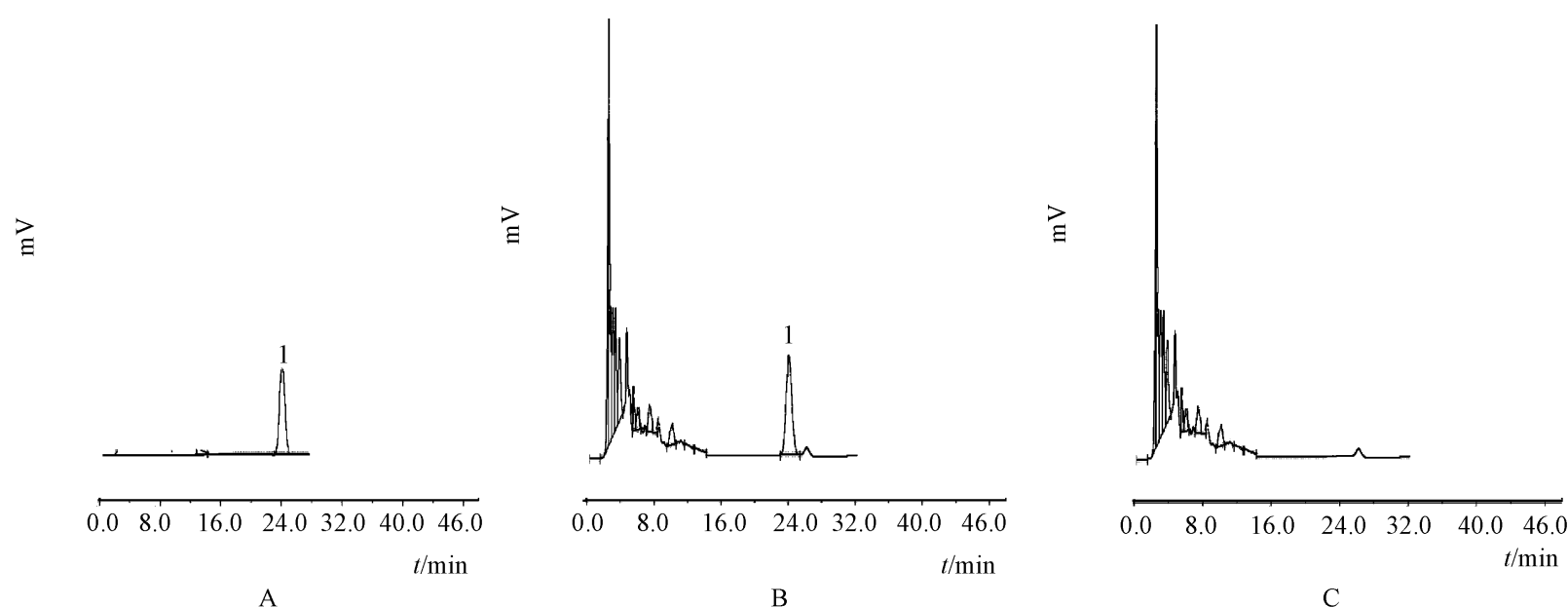


图 1 黄芩苷样品、对照品、阴性样品 HPLC 色谱图

A. 对照品溶液; B 样品溶液; C 阴性样品溶液; 1. 黄芩苷

2.3 金银花^[4] 取本品 10 g, 研细, 加甲醇 40 mL, 超声 15 min, 过滤, 滤液蒸干, 残渣加水 10 mL 使溶解, 加乙酸乙酯提取两次, 每次 20 mL, 合并乙酸乙酯液, 蒸干, 加甲醇 1 mL 溶解, 作为供试品溶液; 另取绿原酸对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 1mg 的溶液, 作为对照品溶液; 取除金银花以外的药材, 按照样品制备工艺制成阴性对照样品, 再按照供试品溶液的制备方法同法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法试验^[3], 吸取上述 3 种溶液各 10 μ L, 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 H 薄层板上, 以乙酸丁酯-甲酸-水(7 2.5 2.5)的上层液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 在紫外光灯(365 nm)下检视, 结果在供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点, 而阴性对照液色谱中无相应斑点。

3 含量测定

3.1 色谱条件 色谱柱 C_{18} 柱(4.6 mm $\times$ 200 mm, 5 μ m); 检测波长 280 nm, 流速 1.0 mL $\cdot$ min⁻¹; 流动相 甲醇-水-磷酸(47 53 0.2); 进样量 20 μ L。在上述色谱条件条件下, 分别取对照品溶液和样品溶液及阴性样品溶液进样。所得色谱图 1, 黄芩苷与相邻其他组分峰分离完全, 分离度为 12.43, 保留时间为 23.10 min, 理论塔板数为 26 860, 阴性样品无干扰。

3.2 溶液的制备

3.2.1 对照品溶液 精密称取黄芩苷对照品 15 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为贮备液, 再精密量取 1 mL 置 10 mL 量瓶中,

加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得含黄芩苷为 30 μ g $\cdot$ mL⁻¹的对照品溶液。

3.2.2 供试品溶液 取 10 包颗粒, 混合均匀, 研细, 精密称定 1 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70% 甲醇 20 mL, 精密称定, 超声处理 20 min, 放冷, 用 70% 甲醇补足减失的质量, 离心 2 min, 取上清液, 用 0.45 μ m 膜过滤, 作为样品溶液。

3.2.3 阴性样品溶液 按处方比例制备缺黄芩的阴性样品, 依 3.2.2 项下制备阴性样品溶液。

3.3 线性关系考察 分别精密量取对照品贮备液 0.6, 1.0, 1.4, 1.8, 2.2 mL 置 10 mL 量瓶中, 加 70% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得每 1 mL 含黄芩苷 18, 30, 42, 54, 66 μ g 的对照品溶液。各精密量取 20 μ L 进样, 以上述色谱条件进行测定。以峰面积(Y)与对照品质量(X)进行线性回归, 得黄芩苷的回归方程为 $Y = 88.75X - 136.8$ ($r = 0.9994$, $n = 5$), 线性范围为 18 ~ 66 μ g $\cdot$ mL⁻¹; 结果表明, 黄芩苷在相应范围内线性关系良好。

3.4 精密度试验 精密量取 3.2.1 项下的对照品溶液, 按上述色谱条件重复进样 5 次, 黄芩苷峰面积积分值的 RSD 为 0.36%。

3.5 重复性试验 取同一批号清热明目颗粒(批号为 090324)6 份, 按 3.2.2 项下方法制备样品溶液, 以上述色谱条件测定黄芩苷的峰面积, 计算含量, RSD 分别为 0.49%。

3.6 稳定性试验 精密量取同一批号的样品溶液, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 进样 1 次, 测定含量, 结果表明, 在 10 h 内黄芩苷的含量均无明显变化, RSD 分别为 0.38%。

3.7 加样回收率试验 精密称取黄芩苷对照品 183.5 mg 置 50 mL 量瓶中,加 70% 甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,再精密量取 5 mL 置 50 mL 量瓶中加 70% 甲醇稀释至刻度,摇匀,作为测回收率对照品溶液备用;精密称取已知含量的清热明目颗粒 0.5 g 9 份,分别置具塞锥形瓶中,再精密加入上述对照品溶液适量,依 “3.2.2”项下的方法,精密加入 70% 甲醇至 20 mL,测定含量进行回收率试验,结果见表 1。

表 1 黄芩苷的加样回收率(n = 9)

样品质量/g	样品含量/ μg	对照品加入量/ μg	测得量/ μg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.499 4	366.28	293.6	664.28	101.2	100.8	0.48
0.500 8	366.87	293.6	663.11	100.7		
0.500 3	366.50	293.6	664.50	101.2		
0.500 3	366.50	367.0	733.87	100.1		
0.501 2	367.16	367.0	735.99	100.5		
0.501 0	367.02	367.0	740.26	101.7		
0.499 6	365.99	440.4	809.32	100.8		
0.499 2	365.70	440.4	807.56	100.4		
0.500 6	366.72	440.4	810.79	101.0		

3.8 样品含量测定 精密称取 3 批清热明目颗粒样品,按 “3.2.2”项下方法制备样品溶液及 “3.2.1”项下对照品混合溶液,分别进样 20 mL,按外标法计算含量,结果见表 2。

表 2 3 批样品中黄芩苷含量测定结果(n = 3)

批号	含量/(μg /g)	RSD/%
080417	721.26	0.28
080724	613.48	0.39
080903	732.57	0.38

4 讨论

4.1 提取条件的考察 本实验精密称取 1 g 样品,分别用 20% 甲醇,50% 甲醇,70% 甲醇,100% 甲醇

20 mL 超声提取 10 min,测定含量,结果,70% 甲醇的提取液中黄芩苷的含量最高。又分别精密称取 1 g 样品,加 70% 甲醇 20 mL,超声时间分别为 10 min,20 min,30 min,测定黄芩苷含量,结果,超声 20 min 的颗粒黄芩苷含量高,故确定提取条件为 70% 甲醇,超声 20 min。

4.2 流动相的选择 文献中测定黄芩苷的流动相比较多,本实验比较了 2 种流动相^[3,5],结果甲醇-水-磷酸(47 53 0.2)的分离效果较好,故选用其作为流动相,280 nm 作为检测波长。

本中药制剂疗效确切,效果显著,根据医院制剂的实际情况,寻找简便、快速并具有较强的专属性的方法,起到有效控制质量的目的。本方法采用薄层色谱法对清咽颗粒中的中药—金银花、黄芩、山麦冬进行鉴别,采用高效液相色谱法对黄芩苷进行含量测定,其方法简便易行,层析分离清晰,斑点集中,阴性对照无干扰,重复性好,专属性强,灵敏度高,可用于该药品的质量控制。

[参考文献]

[1] 王莉,王华,韩秀梅. 八味咳喘糖浆的制备及质量控制[J]. 中国医院药学杂志 2009,29(3):238.
[2] 王吉惠,熊桂珍. 止泻敷液的制备与临床应用[J]. 中国医院药学杂志 2005,25(12):1181.
[3] 国家药典委员会. 中国药典[S]. 一部. 北京:化学工业出版社,2005:436,附录引,318.
[4] 吴钊华,关骏良. 银板岗颗粒的制备[J] 中国医院药学杂志 2005,25(12):1178.
[5] 江丽,申国庆,龚春燕. 高效液相色谱法测定黄芩胶囊中黄芩苷的含量[J]. 中国医院药学杂志 2008,28(16):1418.

[责任编辑 顾雪竹]