

鼻炎灵丸质量标准的研究

周光皎^{1*}, 王超群², 白娟²

(1. 亳州职业技术学院, 安徽 亳州 230068; 2. 安徽省医学科学研究院, 合肥 230061)

[摘要] 目的:提高完善鼻炎灵丸的质量标准。方法:采用薄层色谱法对制剂中苍耳子、辛夷、薄荷、细辛 4 味药材进行定性鉴别,采用 C₁₈柱,流动相甲醇-水-磷酸(47:53:0.2),检测波长 278 nm 测定样品中黄芩苷的含量。结果:薄层鉴别的色谱斑点清晰,阴性对照无干扰;黄芩苷的线性范围在 0.125 6~2.198 μg 呈良好的线性关系($r=0.999\ 9$),平均加样回收率 98.05%,RSD 1.66%,精密度和重复性均良好。结论:该方法操作简便,重复性好,专属性强,可以用于鼻炎灵丸的质量控制。

[关键词] 鼻炎灵丸; 质量标准; 薄层色谱; 高效液相色谱

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)24-0128-04

Quality Standard of Biyanling Pill

ZHOU Guang-jiao^{1*}, WANG Chao-qun², BAI Juan²

(1. Bozhou Vocational and Technical College, Bozhou 230068, China;
2. Anhui Academy of Medical Science, Hefei 230061, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for quality control of Biyanling Pill. **Method:** Cocklebur fruit, Flos magnoliae liliflorae, Mentha haplocalyx and Asarum were identified by TLC, and the content of baicalin in pills was determined by HPLC with C₁₈ column and the mobile phase consisted of methanol-water-phosphoric acid solution (47:53:0.2). Detection wavelength was set at 278 nm. **Result:** Cocklebur fruit, Flos magnoliae liliflorae, Mentha haplocalyx and Asarum could be identified by TLC. The calibration curves of baicalin was in a good linearity in the range of 0.125 6-2.198 μg ($r=0.999\ 9$). The average recovery rate was 98.05% with RSD of 1.66% ($n=6$). **Conclusion:** The method is simple, accurate and can be applied to the quality control of Biyanling Pill.

[Key words] Biyanling Pill; quality standard; TLC; HPLC

鼻炎灵丸是由苍耳子、辛夷、黄芩、白芷、细辛、川贝母、薄荷、淡豆豉 8 味中药组成,鼻炎灵丸收载于《中国药典》2005 年版一部,具有祛风宣肺、清热解毒之功效,多用于治疗急、慢性非特异性炎症和过敏引起的鼻炎等症^[1-2]。现行鼻炎灵丸的质量标准不够完善,含量测定指标单一,已不能满足中药现代化质量控制的要求^[3]。本论文拟对原标准进行修订和提高,增加薄层色谱鉴别和含量测定,建立苍耳子、辛夷、细辛、薄荷鉴别方法及制剂中黄芩的黄芩

苷高效液相色谱含量测定方法,整个操作简单、合理,可以作为本品的质量控制方法。

1 仪器与试剂、试药

1.1 仪器 硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工厂),电子天平(德国赛多利斯),超声波清洗器(德国 Elma 公司),LC-20AT 高效液相色谱仪(日本岛津),紫外-可见分光光度计(德国 JENA)。

1.2 试剂、试药 苍耳子对照药材(批号 121168-200604),木兰脂素对照品(批号 110882-200504),细辛对照药材(批号 121204-0101),细辛脂素(批号 111889-201102),薄荷对照药材(批号 120916-200407),薄荷脑对照品(批号 110728-200506),黄芩苷对照品(批号 11809-200604)均由中国药品生物制品检定所提供;鼻炎灵丸(批号 C1A001, C1A002, C1A003)由广州白云山和记黄埔中药有限

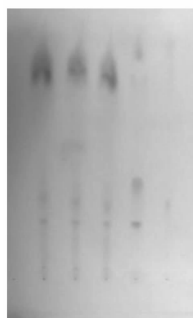
[收稿日期] 20120627(015)
[基金项目] 安徽省质量工程资助项目(20101458)
[通讯作者] * 周光皎, 硕士, 讲师, 执业药师, 从事中药制剂及质量标准研究, Tel:0558-5587006

公司提供;甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯,均由国药集团化学试剂有限公司提供;水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 苍耳子薄层定性鉴别 取苍耳子对照药材 2 g,加甲醇 25 mL,超声处理 20 min,滤过,滤液浓缩至约 2 mL,作为对照药材溶液。取本品研细,取 6 g,加甲醇 25 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液浓缩至约 2 mL,作为供试品溶液。另按处方配比,取除苍耳子外的其他药材,按《中国药典》2005 年版一部鼻炎灵丸的【制法】项下的工艺制成丸剂,再按上述供试品溶液制备方法制得阴性样品溶液。

照薄层色谱法^[4],吸取供试品溶液和对照药材溶液各 10 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正丁醇-冰醋酸-水(4:1:10)上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,置氨蒸气中熏置斑点显色清晰,日光下检视。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,结果见图 1^[5-6]。



1~3. 样品(C1A001、C1A002、C1A003);

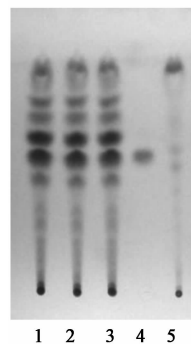
4. 苍耳子对照药材;5. 缺苍耳子阴性对照

图 1 苍耳子 TLC 鉴别

2.2 辛夷薄层定性鉴别 取辛夷对照药材 2 g,加甲醇 25 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液浓缩至约 2 mL,作为对照药材溶液。取本品研细,取 6 g,加甲醇 25 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液浓缩至约 2 mL,作为供试品溶液。另按处方配比,取除辛夷外的其他药材,按《中国药典》2005 年版一部鼻炎灵丸的【制法】项下的工艺制成丸剂,再按上述供试品溶液制备方法制得阴性样品溶液。

照薄层色谱法^[4],吸取供试品溶液和对照品溶液各 5 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-乙醚(5:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 的硫酸乙醇溶液,在 90 $^{\circ}$ C 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,显相同的紫红色斑点,阴性对照样品无干扰,结果见

图 2^[7]。



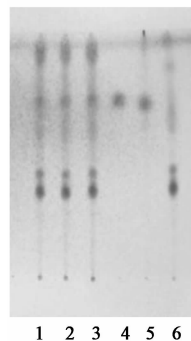
1~3. 样品(C1A001、C1A002、C1A003);

4. 木兰脂素对照品;5. 缺辛夷阴性对照

图 2 辛夷 TLC 鉴别

2.3 薄荷薄层定性鉴别 取薄荷对照药材 0.5 g,加石油醚(60~90 $^{\circ}$ C) 5 mL,密塞,振摇 5 min,放置 30 min,滤过,滤液挥至 1 mL,作为对照药材溶液。再取薄荷脑对照品,加石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)制成每 1 mL 含 2 mg 的溶液,作为对照品溶液。取本品研细,取 7 g,加石油醚(60~90 $^{\circ}$ C) 30 mL,密塞,振摇数分钟,放置 30 min,滤过,滤液挥至 1 mL,作为供试品溶液。另按处方配比,取除薄荷外的其他药材,按《中国药典》2005 年版一部鼻炎灵丸的【制法】项下的工艺制成丸剂,再按上述供试品溶液制备方法制得阴性样品溶液。

照薄层色谱法^[4],吸取供试品溶 10 μ L,对照药材溶液和对照品溶液各 5 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯(21:7)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 香草醛硫酸溶液,在 100 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰,在日光下检视。供试品色谱中,在与对照品和对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照样品无干扰,结果见图 3^[8]。



1~3. 样品(C1A001、C1A002、C1A003);

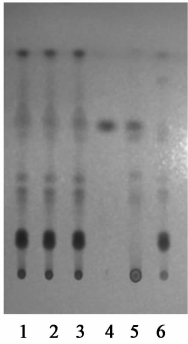
4. 薄荷脑对照品;5. 薄荷对照药材;6. 缺薄荷阴性对照

图 3 薄荷 TLC 鉴别

2.4 细辛薄层定性鉴别 取细辛对照药材 0.5 g,

加甲醇 20 mL,超声处理 45 min,滤过,滤液蒸干,作为对照药材溶液。再取细辛脂素对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。另取本品研细,取 10 g,加甲醇 60 mL,超声处理 45 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 2 mL 使溶解,作为供试品溶液。另按处方配比,取除细辛外的其他药材,按《中国药典》2005 年版一部鼻炎灵丸的【制法】项下的工艺制成丸剂,再按上述供试品溶液制备方法制得阴性样品溶液。

照薄层色谱法^[4],吸取供试品溶 10 μL,对照品和对照药材溶液 5 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(60~90℃)-乙酸乙酯(2:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 香草醛硫酸溶液,热风吹至斑点显色清晰,在日光下检视。^[9]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,阴性对照样品无干扰,结果见图 4。



1~3. 样品(C1A001,C1A002,C1A003);
4. 细辛脂素对照品;5. 细辛对照药材;6. 缺细辛阴性对照

图 4 细辛 TLC 鉴别

2.5 鼻炎灵丸中黄芩苷的含量测定研究^[10-12]

2.5.1 色谱条件 菲罗门 C₁₈ ODS 柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相甲醇-水-磷酸(47:53:0.2),流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长:278 nm,柱温为室温,进样量 5 μL,理论塔板数按黄芩苷计不应低于 3 000。

2.5.2 检测波长的选择 取黄芩苷对照品适量,用流动相溶解配成溶液,在 200~400 nm 进行扫描,黄芩苷最大吸收波长为 278 nm,与查阅文献所用的测定波长(280 nm)基本一致,故选择 278 nm 作为检测波长。

2.5.3 对照品溶液的制备 精密称取黄芩苷对照品适量,加 75% 乙醇制成每 1 mL 含黄芩苷 0.028 mg 的溶液,即得。

2.5.4 供试品溶液的制备 取本品粉末 0.5 g,精密称定,置带塞三角瓶中,精密加入 25 mL 75% 乙醇,

称定质量,超声 30 min,放冷,再称定质量,用 75% 乙醇补足减失的质量,摇匀,微孔滤膜(0.22 μm)滤过,即得。

2.5.5 阴性对照品溶液的制备 按处方及制法制成缺黄芩的阴性对照样品,取相当于供试品的量,按供试品溶液的制备方法制成阴性对照品溶液。

2.5.6 线性关系考察 精密量取黄芩苷对照品溶液(62.8 mg·L⁻¹)2,6,10,15,20,25,30,35 μL 注入液相色谱仪,测定,以峰面积积分值为纵坐标,黄芩苷进样量(μg)为横坐标,进行线性回归,得回归方程:Y=3 229 381X+4 838(r=0.999 9)结果表明黄芩苷在 0.125 6~2.198 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.5.7 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液连续进样 6 次,每次 6 μL,记录峰面积,测定精密度,计算峰面积的 RSD 0.8%,结果得精密度良好。

2.5.8 重复性试验 取同一批样品(批号 C1A001)6 份,分别按 2.5.4 项下供试品溶液制备方法制备样品溶液,测定每份样品中黄芩苷的含量,计算峰面积的 RSD 0.44%(n=6),结果表明重复性良好。

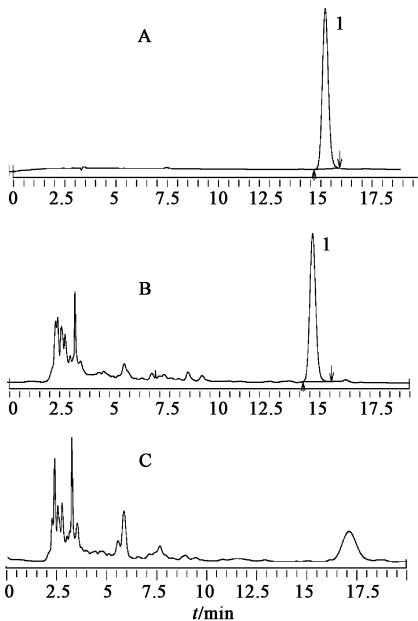
2.5.9 加样回收率试验 精密称取已知含量的同批样品 6 份(批号 C1A001,6.331 mg·g⁻¹),每份 0.25 g,精密称定,分别精密加入 0.032 g·L⁻¹的黄芩苷对照品 25 mL,分别按 2.5.4 项下供试品溶液制备方法制成供试品溶液,按供试品含量测定方法制备测定,计算回收率,结果平均回收率为 98.05%,RSD 1.66%,加样回收良好。见表 1。

表 1 加样回收率试验(n=6)

No.	样重 /g	黄芩苷 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均 回收率 /%	RSD /%
1	0.250 1	0.705 7	0.794 8	1.468 4	95.94	98.05	1.66
2	0.249 1	0.702 9	0.794 8	1.500 5	100.34		
3	0.252 1	0.711 4	0.794 8	1.477 7	96.42		
4	0.249 7	0.704 6	0.794 8	1.488 4	98.61		
5	0.249 0	0.702 7	0.794 8	1.483 6	98.26		
6	0.252 2	0.711 7	0.794 8	1.496 5	98.74		

2.5.10 专属性试验 按鼻炎片处方和制法,制成缺黄芩的阴性样品,按 2.5.5 项下方法制备阴性对照溶液。取对照品溶液、样品溶液、阴性对照溶液,按本文条件各进样 10 μL,阴性对照无干扰,见图 5。

2.5.11 样品含量的测定 取 3 批样品,分别按正



A. 对照品;B. 样品;C. 阴性样品;1. 黄芩苷

图5 黄芩苷 HPLC

文方法测定黄芩苷的含量,结果见表2。

表2 样品中黄芩苷的含量测定(n=3) mg·g⁻¹

批号	含量/mg·g ⁻¹	RSD/%
C1A001	0.282 4	1.06
C1A002	0.283 8	1.13
C1A003	0.280 0	0.98

3 讨论

本课题在原有的基础上增加了4味药材的薄层色谱鉴别方法以及黄芩苷的含量测定方法,为鼻炎灵丸的质量控制提供了可靠、可行的分析方法。高效液相色谱法用于测定中药复方制剂中成分含量,操作简单,快速,准确,故选用高效液相色谱法测定鼻炎灵片中黄芩苷的含量。在选定的色谱条件

下,供试品色谱中,在与对照品色谱峰相同的保留时间处有色谱峰,与其他组分达到基线分离较好;除去黄芩的阴性供试品色谱中,在与对照品色谱峰相同的保留时间处无色谱峰,表明阴性无干扰。

[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:中国医药科技出版社,2010.

[2] 中华耳鼻喉科头颈外科杂志编辑委员会,中华医学会耳鼻喉科分会. 变应性鼻炎的诊治原则和推荐方案(2004年,兰州)[J]. 中华耳鼻喉科头颈外科杂志,2005,40(3):166.

[3] 陈建民,俞敏倩,林级田,等. 强效鼻炎灵主要成分的鉴别和含量测定方法的研究[J]. 云南医药,1990,1:18.

[4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:附录 VIB.

[5] 尹靖先,邓晓鸿,车晓彦,等. 苍耳子的薄层层析鉴别研究[J]. 华西药学杂志,2005,20(1):67.

[6] 吴建伟,付小梅,谭道鹏,等. 苍耳子药材薄层定性鉴别与含量测定[J]. 江西中医药,2011,42(4):62.

[7] 黄顺旺. 麻辛止咳胶囊质量标准的初步研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(14):84.

[8] 冷爱晶,姚继红,周琴. 鼻炎舒水的薄层鉴别研究[J]. 时珍国医国药,2007,18(12):2999.

[9] 刘莉,穆晓敏,沈亦妙,等. 穴敷喘平凝胶贴剂质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(11):32.

[10] 余莲. 紫外分光光度法测定清热口服液黄芩苷含量[J]. 中国药业,2003,12(5):40.

[11] 杨书良. 桔芩中清热黄酮类药效组分的测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(4):83.

[12] 陈颖,马春娟,谷伟玲,等. 高效液相色谱法测定鼻炎灵片中黄芩苷的含量[J]. 云南中医中药杂志,2005,26(1):40.

[责任编辑 顾雪竹]