

肺热清解口服液质量标准提高

刘佩沂¹, 赖岳晓¹, 田素英^{2*}, 沈秀娜²

(1. 广东省中山市黄圃人民医院, 广东 中山 528429; 2. 广东药学院, 广州 510006)

[摘要] **目的:**建立以绿原酸为指标的肺热清解口服液质量控制方法。**方法:**采用 TLC 对肺热清解口服液中桑白皮与芦根进行定性鉴别,采用 HPLC 测定肺热清解口服液中绿原酸的含量, Haito Pack ODS 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相甲醇-1%冰醋酸溶液(20:80), 检测波长 326 nm, 柱温 30 ℃, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 进样量 10 μL。**结果:**桑白皮和芦根在与对照药材色谱相应位置上显相同斑点, 且阴性对照无干扰。绿原酸在 3.180~106.0 mg·L⁻¹与峰面积呈良好线性关系, 平均回收率 100.5% (RSD 2.05%), 4 批样品中绿原酸平均质量浓度分别为 28.9, 42.5, 28.6, 21.7 mg·L⁻¹。**结论:**建立的含量测定方法简便、快捷、准确, 可作为肺热清解口服液的质量控制方法之一。

[关键词] 肺热清解口服液; 薄层色谱法; 高效液相色谱; 桑白皮; 芦根

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)21-0117-03

[doi] 10.11653/syjf2013210117

Improvemert of Quality Standard for Feire Qingjie Oral Liquid

LIU Pei-yi¹, LAI Yue-xiao¹, TIAN Su-ying^{2*}, SHEN Xiu-na²

(1. Huangpu People's Hospital, Zhongshan 528429, China;

2. Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a quality control method of Feire Qingjie oral liquid with chlorogenic acid as index. **Method:** Mori Cortex and Phragmitis Rhizoma from Feire Qingjie oral liquid were identified qualitatively by TLC. HPLC was adopted to determine the content of chlorogenic acid from Feire Qingjie oral liquid, chromatographic conditions included Haito Pack ODS column (4.6 mm×250 mm, 5 μm), methanol-1% glacial acetic acid (1:4) as mobile phase, detection wavelength at 326 nm, flow rate 1.0 mL·min⁻¹, injection volume 10 μL, column temperature at 30 ℃. **Result:** By comparing with reference drug chromatography, Mori Cortex and Phragmitis Rhizoma showed the same spots on corresponding position without interference of negative control. Chlorogenic acid showed a good linear relationship in the rang of 3.180-106.0 mg·L⁻¹ with $r = 1$, average recovery was 100.5% with RSD 2.05%, the average mass concentration of chlorogenic acid from four batches of samples were 28.9, 42.5, 28.6, 21.7 mg·L⁻¹. **Conclusion:** This established method was convenient, quick, accurate and available for one of quality control methods for Feire Qingjie oral liquid.

[Key words] Feire Qingjie oral liquid; TLC; HPLC; Mori Cortex; Phragmitis Rhizoma

肺热清解口服液是根据我院老中医验方和临床医疗需要自行配制的药物制剂(批准文号为粤药制

字 Z20071152), 由野菊花、桑白皮、芦根、瓜蒌皮等多味中药组成, 具有清热宣肺、止咳平喘之功效, 主治肺热咳嗽, 用于治疗急性支气管炎及肺部感染, 疗效显著。原质量标准仅利用 TLC 对方中瓜蒌皮、地龙干的有效成分进行定性分析。本实验拟建立新的质量控制方法, 对该处方中桑白皮与芦根进行 TLC 定性鉴别, 采用 HPLC 测定绿原酸含量, 为本制剂的有效质量控制提供参考。

[收稿日期] 20130329(006)

[基金项目] 广东省中山市卫生局科研项目(2009078)

[第一作者] 刘佩沂, 副主任中药师, 从事药剂学研究, Tel: 13590936626, E-mail: hpylyx@126.com

[通讯作者] * 田素英, 硕士, 副教授, 从事中药开发应用研究, Tel: 15362965291, E-mail: zsxqtsy@126.com

1 材料

1100 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司), XS105D 型电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司), ZF-20D 型暗箱式紫外分析仪(上海顾村电光仪器厂)。绿原酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110753-200403), 肺热清解口服液(中山市黄圃人民医院制剂室提供,批号 20110209, 20110809, 20110922, 20111103), 薄层色谱硅胶 G(青岛海洋化工有限公司), 桑白皮、芦根对照药材(均购自中国药品生物制品检定所,批号分别为 121124-200906, 1107-200001), 甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。芦根、桑白皮均购于中山市中智大药房, 经广东药学院田素英副教授鉴定为禾本科植物芦苇 *Phragmites communis* Trin. 的干燥根茎, 桑科植物桑 *Morus alba* L. 的干燥根皮。

2 方法与结果

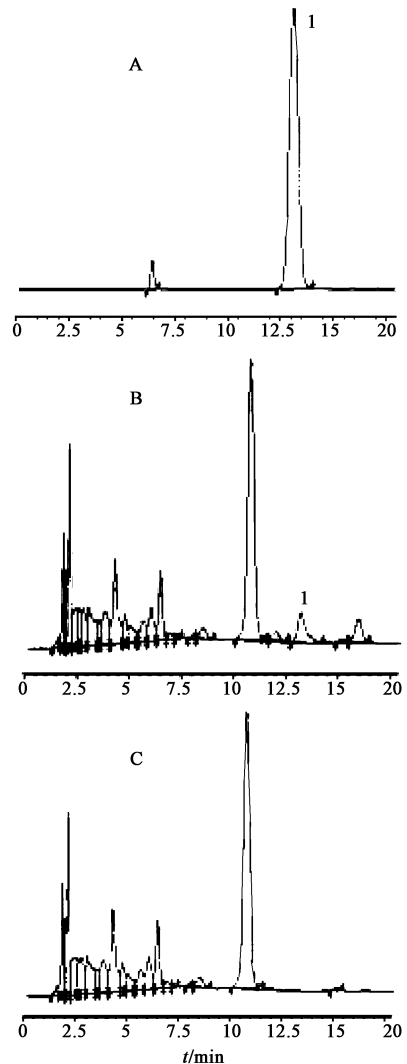
2.1 桑白皮的定性鉴别^[1-2] 取本品 20 mL, 用乙酸乙酯提取 2 次, 每次 20 mL, 合并提取液, 水浴挥干, 残渣加乙酸乙酯 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。取桑白皮对照药材粉末 3 g, 加水 100 mL 煎煮 30 min, 过滤, 滤液浓缩至 20 mL, 用乙酸乙酯提取 2 次, 每次 20 mL, 合并提取液, 水浴挥干, 残渣加乙酸乙酯 1 mL 溶解, 作为对照药材溶液。另取处方中不含桑白皮的其他药材, 按本品工艺及上述供试品制备方法制成阴性样品溶液。按 2010 年版《中国药典》一部附录 VIB 进行 TLC 试验, 吸取上述 3 种溶液各 5 μ L, 分别点于同一羧甲基纤维素钠(CMC-Na)硅胶 G 薄层板上, 以环己烷-乙酸乙酯-甲酸(5:5:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外灯(365 nm)下检视, 供试品溶液在与对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点, 阴性样品无干扰。

2.2 芦根的定性鉴别^[3-4] 量取本品 10 mL, 离心(3 500 r·min⁻¹)处理 10 min, 取上清液, 加三氯甲烷提取 3 次, 每次 10 mL, 合并三氯甲烷提取液, 水浴挥干, 残渣用甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。取芦根对照药材粉末 2 g, 加三氯甲烷 20 mL, 超声处理 20 min, 滤过, 滤液水浴挥干, 残渣用甲醇 1 mL 使溶解, 作为对照药材溶液。另取处方中不含芦根的其他药材, 按本品工艺及上述供试品溶液制备方法制成阴性样品溶液。按 2010 年版《中国药典》一部附录 VIB 进行 TLC 试验, 吸取上述 3 种溶液各 5 μ L, 分别点于同一 CMC-Na 硅胶 G 薄层板上, 以环己烷-乙酸乙酯(16:3)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以磷钼酸试液, 热风加热至斑点清晰, 显示供

试品溶液在与对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点, 阴性样品溶液在相应位置无干扰。

2.3 绿原酸含量测定^[5-6]

2.3.1 色谱条件 Haito Pack ODS 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m), 流动相甲醇-1% 冰醋酸溶液(20:80), 检测波长 326 nm, 柱温 30 $^{\circ}$ C, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 进样量 10 μ L, 见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照样品; 1. 绿原酸

图 1 肺热清解口服液 HPLC

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称取绿原酸对照品 0.005 3 g, 置于 10 mL 棕色量瓶中, 加甲醇适量, 振摇使溶解, 用甲醇稀释至刻度, 作为对照品储备液。精密量取该储备液 2 mL, 置于 20 mL 棕色量瓶中, 加甲醇适量, 振摇使溶解, 用甲醇稀释至刻度, 作为对照品溶液(53 mg·L⁻¹)。

2.3.3 供试品溶液的制备 精密量取本品 5.0 mL, 置 25 mL 棕色量瓶, 加 50% 甲醇适量, 超声 10 min, 用 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 用 0.45 μ m 微孔滤

膜滤过,取续滤液,即得。

2.3.4 阴性对照溶液的制备 取处方量中除野菊花、桑白皮以外的各味药材,按肺热清解口服液制备工艺及**2.3.3**项下方法制成双阴性对照品溶液。

2.3.5 检测波长的确定 取对照品溶液和供试品溶液适量,采用HPLC进行DAD全波长扫描,结果显示在326 nm处均有最大吸收。

2.3.6 线性关系考察 分别精密量取对照品溶液储备液0.06,0.125,0.25,0.5,1.0,1.5,2.0 mL,置10 mL棕色量瓶中,分别用甲醇稀释至刻度,摇匀,分别精密吸取10 μ L,注入液相色谱仪,测定峰面积,以绿原酸质量浓度为横坐标,峰面积积分为纵坐标,得回归方程 $Y = 17.376X - 1.4309 (r = 1)$,表明绿原酸在3.180 ~ 106.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 与峰面积积分值呈良好线性关系。

2.3.7 精密度试验精密 精密吸取绿原酸对照品溶液10 μ L,重复进样6次,结果峰面积的RSD 1.77%,表明仪器精密度良好。

2.3.8 重复性试验 精密称取同一批号样品6份,按**2.3.3**项下方法制备供试品溶液,按**2.3.1**项下色谱条件连续测定6次,结果绿原酸平均质量浓度28.4 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,RSD 1.33%,表明该方法重复性良好。

2.3.9 稳定性试验 精密吸取对照品溶液5 mL,按**2.3.3**项下方法制备供试品溶液,分别于0,1,2,4,8,24 h按**2.3.1**项下色谱条件测定,结果绿原酸峰面积积分值的RSD 0.98%,表明对照品溶液在24 h内基本稳定。

2.3.10 加样回收试验 精密量取已知绿原酸含量(28.4 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)的肺热清解口服液样品共9份,每份5 mL,3份为1组,分别置于50 mL量瓶中,每组依次按80%,100%,120%加入绿原酸对照品,按**2.3.3**项下方法制备供试品溶液,测定,计算绿原酸回收率,结果见表1。

2.3.11 样品测定 精密吸取4批(批号20110209,20110809,20110922,20111103)肺热清解口服液样品适量,分别按**2.3.3**项下方法制备供试品溶液,按**2.3.1**项下色谱条件测定,记录峰面积,结果绿原酸平均质量浓度分别为28.9,42.5,28.6,21.7 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

3 讨论

在进行芦根TLC鉴别时,选择2010年版《中国药典》芦根项下方法的石油醚(30 ~ 60 $^{\circ}\text{C}$)-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1)的上层溶液为展开剂,以磷钼酸为显色剂,结果发现阴性对照溶液存在干扰,改用文献

表1 绿原酸加样回收率试验

加入量/ μg	测得量/ μg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
10.6	25.0	101.4	100.5	2.05
10.6	25.2	102.8		
10.6	24.6	98.6		
13.25	27.2	98.2		
13.25	27.9	103.2		
13.25	27.3	98.9		
15.9	29.9	98.6		
15.9	30.5	102.8		
15.9	30.1	100.0		

方法进行TLC鉴别^[4],即以环己烷-乙酸乙酯(16:3)为展开剂,再用磷钼酸显色,结果发现荧光斑点分离较2010年版《中国药典》方法好,且阴性无干扰。

处方中多味药材含有绿原酸,故选择绿原酸为指标进行质量标准研究,方中桑白皮治疗痰热郁肺型肺病有较好疗效^[7],野菊花具有清热解毒作用,绿原酸均为主要成分之一^[8],建立的绿原酸HPLC含量测定方法简便、快捷、准确、重复性好,可作为肺热清解口服液的质量控制方法。

[参考文献]

- [1] 吴素香,孙静芸,寿旦. 桑白皮的薄层色谱鉴别方法研究[J]. 中草药,2002,33(3):261.
- [2] 潘志西,董俊仁. 桑白皮及其混淆品的紫外光谱鉴别[J]. 中国医院药学杂志,1992,12(9):420.
- [3] 晁若瑜,杨靖亚,蔡晓桦,等. 芦根多糖的分离纯化和体外抗肿瘤研究[J]. 食品工业科技,2011,32(12):284.
- [4] 张国升,樊明月,张佳美,等. 芦根多糖的提取及含量测定[J]. 安徽中医学院学报,2002,21(1):5.
- [5] 何小珍,贺冬秀,周进,等. RP-HPLC测定野菊花及其叶中绿原酸的含量[J]. 现代中药研究与实践,2012,26(3):26.
- [6] 宫钦红,阮健. 珍菊降压片中绿原酸与氢氯噻嗪的含量测定[J]. 中国中药杂志,2011,36(4):481.
- [7] 叶玲,洪旭初. 桑白皮汤治疗痰热郁肺型慢性阻塞性肺疾病急性加重期疗效观察[J]. 实用中医内科杂志,2011,25(11):44.
- [8] 吴钉红,杨立伟,苏薇薇. 野菊花化学成分及药理研究进展[J]. 中药材,2009,27(2):142.

[责任编辑 仝燕]