

止嗽青果丸质量控制

张建伟^{1*}, 王瑞峰¹, 杨爱岗¹, 李军红¹, 邢亚楠¹, 张思巨²

(1. 北京振东光明药物研究院有限公司国家中医药三级实验室, 北京 100120;
2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] **目的:**为了提高止嗽青果丸的质量标准,建立止嗽青果丸质量控制的定性与定量方法。**方法:**采用薄层色谱法对处方中西青果以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(5:4:1)、麻黄以三氯甲烷-甲醇-浓氨水(20:5:0.5)为展开剂进行色谱鉴别;采用高效液相色谱法进行定量分析,以乙腈-0.1%磷酸溶液[5:95(内含0.1%三乙胺)]为流动相,色谱柱 kromasil-C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm),流速 0.8 mL·min⁻¹,检测波长 210 nm,柱温 35℃。**结果:**薄层色谱图谱中能清晰检出西青果、麻黄;盐酸麻黄碱进样量在 0.085~0.427 2 μg 线性关系良好($r = 0.999 8$);平均回收率为 95.88%,RSD 1.17%。**结论:**本方法专属性强,准确、简便,可作为止嗽青果丸的质量控制。

[关键词] 止嗽青果丸;盐酸麻黄碱;高效液相色谱法;薄层色谱法;含量测定;质量控制

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)09-0133-04

Quality Control of Zhisou Qingguo Pills

ZHANG Jian-wei^{1*}, WANG Rui-feng¹, YANG Ai-gang¹, LI Jun-hong¹, XING Ya-nan¹, ZHANG Si-ju²

(1. Level 3 Laboratory for State Administration of Traditional Chinese Medicine, Beijing Zhendong Guangming Pharmaceutical Research Institute Co., Ltd, Beijing 100120, China; 2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** For improving the quality level of Zhisou Qingguo pill, the qualitative and quantitative method for controlling the quality of Zhisou Qingguo pills was established. **Method:** Thin-layer chromatography was used for identifying the Fructus Terminaliae Immaturus which was developed with toluene-ethyl acetate-formic acid (5:4:1), and ephedra developed with chloroform-methanol-strong ammonia (20:5:0.5); HPLC method was used for quantitative analysis with Acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution [5:95 (containing 0.1% triethylamine)] as mobile phase, the flow rate was 0.8 mL·min⁻¹ flow rate, detection wavelength was at 210 nm and column temperature was at 350℃. **Result:** Fructus Terminaliae Immaturus and ephedra were clearly detected in Thin-layer chromatography atlas; Linear relationship was set up ($r = 0.999 8$) within 0.085-0.427 2 μg as the sample size of Ephedrine hydrochloride; The average recovery was 95.88%; RSD was 1.17%. **Conclusion:** The method was exclusive, accurate, and simple, and it can be used for the quality control of Zhisou Qingguo pills.

[Key words] Zhisou Qingguo pills; ephedrine hydrochloride; HPLC; thin-layer chromatography; content determination; quality control

止嗽青果丸是《卫生部药品标准中药成方制剂》(第10册)收载品种,本方由14味药组成。方

中青果泻火利咽以止嗽,白果敛肺化痰而平喘,麻黄宣肺散邪以定喘,三药共为君药,使清中有宣,散中

[收稿日期] 20111109(013)

[基金项目] 山西振东开元制药有限公司质量标准提高项目(006)

[通讯作者] * 张建伟,本科,助理工程师,从事药物制剂及药品质量研究, Tel:010-62035456, E-mail: zjw0378@yahoo.com.cn

有收,既可清金宣肺,止咳平喘,又无耗伤肺气之弊;桑白皮、款冬花、半夏、浙贝母、杏仁、苏子降气平喘,祛痰止咳,共为臣药;黄芩、石膏、紫苏叶、冰片清热润肺利咽,为佐药;甘草调和诸药而为使。诸药合用,使肺气宣,痰热清,外邪解,则咳喘痰多等症自平。本品原标准中仅收载显微鉴别及冰片的薄层色谱鉴别,未建立含测方法;为了提高药品标准,本文增加了止嗽青果丸中君药西青果、麻黄的薄层色谱鉴别方法,并建立了 HPLC 法测定麻黄中盐酸麻黄碱的含量。

1 材料

美国安捷伦公司高效液相色谱仪(Agilent 1100 series)色谱工作站,CP225D 电子天平(Sartorius);KQ5200DE 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),硅胶 G 板(青岛海洋化工厂),西青果对照药材、盐酸麻黄碱对照品(批号 171241-200303)均由中国药品生物制品检定所提供,止嗽青果丸(山西振东开元制药有限公司,3 g/丸,批号 080919,080920,080921),阴性样品自制,乙腈、甲醇均为色谱纯,水为娃哈哈纯净水,其他试剂均为分析纯。

2 TLC 定性鉴别

2.1 西青果 取本品 2 丸,切碎,加硅藻土 2.4 g,研匀,加乙酸乙酯 30 mL,水浴加热回流提取 1 h,滤过,滤液蒸干,残渣加乙酸乙酯 1 mL 溶解,作为供试品溶液。按处方工艺制备除去西青果阴性对照溶液。另取西青果对照药材 0.5 g,加乙酸乙酯 20 mL,超声提取 20 min,滤过,滤液蒸干,残渣加乙酸乙酯 1 mL 溶解,作为对照药材溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B)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,以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(5:4:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以氨制硝酸银试液,在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。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。

2.2 麻黄 取本品 1 丸,切碎,加硅藻土 1.2 g,研匀,加甲醇 20 mL,超声提取 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1 mL 溶解,作为供试品溶液。按处方工艺制备除去麻黄阴性对照溶液。另取盐酸麻黄碱对照品,加甲醇制成 1 mL 含 1 mg 的对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B)试验,吸取上述 3 种溶液各 2 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-浓氨水(20:5:0.5)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以茚三酮试液,

105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同的红色斑点。阴性对照无干扰(图 2)。

3 含量测定

3.1 色谱条件 色谱柱 kromasil-C₁₈(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m),流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液[5:95(内含 0.1% 三乙胺)],流速 0.8 mL \cdot min⁻¹,检测波长 210 nm,柱温 35 $^{\circ}$ C。

3.2 对照品溶液的制备 取经五氧化二磷减压干燥至恒重的盐酸麻黄碱对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含盐酸麻黄碱 40 μ g 的溶液,摇匀,即得。

3.3 供试品溶液的制备 取止嗽青果丸约 1.0 g,精密称定,加硅藻土 0.4 g,研细,混匀,精密加入 1% 稀盐酸 50 mL,超声处理(功率 250 W,50 Hz)30 min,滤过,滤液置分液漏斗中,用浓氨水调节 pH 至 9~10,加三氯甲烷萃取 3 次,每次 20 mL,合并萃取三氯甲烷液,减压回收挥去三氯甲烷,残渣加甲醇溶解至 10 mL 量瓶中定容至刻度,摇匀,用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。

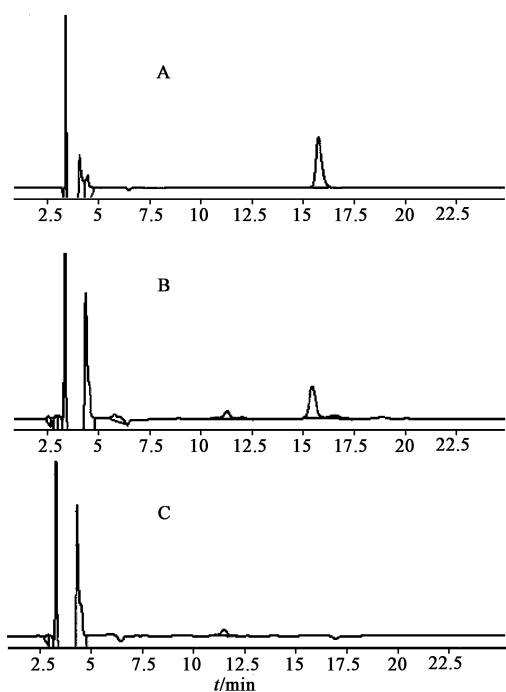
3.4 干扰试验 取麻黄阴性样品,按 3.3 项下方法制成阴性对照溶液。按上述色谱条件,分别取供试品溶液、对照品溶液、阴性对照溶液各 10 μ L 注入色谱仪,依法测定。结果表明,供试品色谱中,盐酸麻黄碱峰与其他峰分离较好;阴性对照液在盐酸麻黄碱出峰处无干扰峰出现。色谱见图 1。

3.5 线性关系考察 精密吸取对照品溶液 2,4,6,8,10 μ L 注入高效液相色谱仪,测定峰面积积分值。以进样量 X (μ g)为横坐标,以峰面积 Y 为纵坐标,进行回归分析,线性回归方程为 $Y = 2\ 600.2X - 4.49$ ($r = 0.999\ 8$)。结果表明盐酸麻黄碱进样量在 0.085~0.4272 μ g 与峰面积呈良好线性关系。

3.6 精密度试验 取同一供试品溶液,在上述色谱条件下连续进样 6 次,测得盐酸麻黄碱的色谱峰面积的 RSD 0.90%,表明仪器精密度良好。

3.7 重复性试验 取同一批号(批号 080919)供试品 1.0 g,精密称取 6 份,按上述 3.3 项下方法平行制备 6 份供试液,在上述色谱条件下测定,测得供试品中盐酸麻黄碱的平均含量为 0.711 mg/丸, RSD 0.99%,表明方法重复性良好。

3.8 稳定性试验 取同一供试品溶液(批号 080919),在相同色谱条件下,分别在 0,3,6,9,12,24 h 进样,测得盐酸麻黄碱的色谱峰面积的 RSD 1.90%。表明供试品溶液在 24 h 内稳定。



A. 盐酸麻黄碱对照品; B. 供试品; C. 阴性对照

图1 止咳青果丸中盐酸麻黄碱的HPLC

3.9 耐用性试验 取同一供试品溶液(批号080919),采用另一根色谱柱进样测定,2次测定值的RSD 0.05%。

3.10 加样回收率试验 取已知含量的样品(批号080919)0.5 g,分别称取6份,精密称定,加硅藻土0.2 g,研细,混匀,置约含有0.1 mg 盐酸麻黄碱对照品的具塞锥形瓶中,按上述3.3方法制备样品液,依法测定,结果见表1。

表1 止咳青果丸中盐酸麻黄碱加样回收率试验

称样量/g	样品中含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.498 3	0.118 0	0.109 6	0.223 0	95.80	95.88	1.17
0.504 2	0.119 4	0.109 6	0.226 2	97.45		
0.499 5	0.118 3	0.109 6	0.223 2	95.71		
0.498 4	0.118 0	0.109 6	0.221 6	94.53		
0.502 8	0.119 2	0.109 6	0.225 4	96.90		
0.500 7	0.118 7	0.109 6	0.222 7	94.89		

3.11 样品含量测定 分别取3批止咳青果丸约1.0 g,精密称定,按3.3制备供试品溶液,在3.1色谱条件下进行测定,结果为0.711, 0.720, 0.708 mg/丸。

4 讨论

4.1 定性鉴别试验 西青果、麻黄鉴别试验,止咳

青果丸均有一个对应斑点,且阴性对照样品液均无干扰;麻黄鉴别曾选用三氯甲烷-甲醇-浓氨水(9:4:0.2)为展开剂进行试验,结果斑点拖尾,不圆整,而用本文方法鉴别西青果、麻黄药材,结果满意。经3批样品试验,结果一致,方法可靠,专属性强。

4.2 定量测定盐酸麻黄碱试验

4.2.1 流动相选择 参考文献[4-7]方法,考察了乙腈-0.1%磷酸溶液[10:90, 9:87, 5:95, 5:95(内含0.1%三乙胺)],选定乙腈-0.1%磷酸溶液[5:95(内含0.1%三乙胺)]时保留时间在16.5 min左右,分离效果较好。

4.2.2 提取方法 比较了冷浸16 h、超声30 min、回流1 h,结果显示回流提取后萃取的盐酸麻黄碱含量低,且杂质较多;超声和冷浸的结果比较接近,且超声比冷浸所用时间也比较短,确定用超声作为供试品溶液的提取方法;同时对提取溶媒、超声时间、溶剂用量、萃取次数分别进行了考察,最终选择提取溶媒为1%稀盐酸、超声时间为30 min、溶剂用量为50 mL;并对萃取次数做了进一步的考察,结果表明三氯甲烷用量为20 mL,萃取3次即可充分提取样品成分,而且萃取完全。

4.3 定性、定量试验中对硅藻土用量 考察了1/3, 1/2, 1/1的硅藻土用量,RSD 1.25%,表明硅藻土的用量无显著影响,但1/3用量研磨时会黏蒸发皿,故选定1/2用量。

本文所建方法可作为止咳青果丸的质量控制。

[参考文献]

[1] 中国药典.一部[S]. 2005:132.
 [2] 周嵩煜.金嗓子喉宝质量控制方法的研究[J].药物分析杂志,2002,22(1):47-50.
 [3] 赵韶华,许红辉,李晓燕,等.莲花清瘟胶囊薄层鉴别与HPLC定量测定[J].中国药品标准,2007,8,(1):55.
 [4] 刘建华,刘文伟,高玉琼,等.HPLC测定祛痰平喘胶囊中盐酸麻黄碱的含量[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(9):93.
 [5] 郭东艳,史亚军.HPLC测定复方麻黄止咳颗粒中盐酸麻黄碱的含量[J].陕西中医,2005,26(4):373.
 [6] 张立峰,袁耀欣.HPLC法测定咳喘舒片中盐酸麻黄碱的含量[J].河北医药,2009,31(8):1011.
 [7] 沈红,狄留庆,黄耀洲,等.不同提取方式对麻黄中麻黄碱提取得率的比较研究[J].南京中医药大学学报,2004,20(3):170.

[责任编辑 蔡仲德]

HPLC 测定广西产匙羹藤叶中牛弥菜醇 A 含量

丘琴^{1,2}, 甄汉深^{2*}, 黄小秋², 黄培倩², 石琳²

(1. 成都中医药大学, 成都 611137; 2. 广西中医学院, 南宁 530001)

[摘要] 目的: 对广西产匙羹藤叶中牛弥菜醇 A 的含量进行测定, 为科学评价及有效控制其质量提供依据。方法: 采用高效液相色谱法, 以氨基柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 为色谱柱, 流动相乙腈-水 (87:13), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 207 nm。结果: 牛弥菜醇 A 在 2.4~12 μg 与峰面积成良好的线性关系 ($r=0.9997$), 平均回收率为 101.39%, RSD 0.74%。结论: 所建立的方法准确, 快速, 灵敏度高, 重复性好, 可作为广西产匙羹藤叶的质量控制方法。

[关键词] 匙羹藤叶; 牛弥菜醇 A; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)09-0136-03

Determination of Conduritol A in Leaf of *Gymnema sylvestre* by HPLC

QIU Qin^{1,2}, ZHEN Han-shen^{2*}, HUANG Xiao-qi², HUANG Pei-qian², SHI Lin²

(1. Chengdou University of Tradition Chinese Medicine, Chengdou 611137, China;

2. Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the content of conduritol A in the leaf of *Gymnema sylvestre*. **Method:** HPLC was adopted, the separation was performed on a Thermo NH₂ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), acetonitrile-water (87:13) was used as the mobile phase, the flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, the detection wavelength was set at 207 nm. **Result:** The liner range of conduritol A was 2.4-12 μg ($r=0.9997$), the average recovery rate was 101.39%, RSD was 0.74%. **Conclusion:** The method was accurate, sensitive, quick and simple. It can be used as the quality control method of the leaf of *G. sylvestre*.

[Key words] *Gymnema sylvestre*; conduritol A; HPLC

匙羹藤又名金刚藤、武靴藤、羊角藤, 为广西民间用药, 具有清热解毒、祛风止痛功效, 用于风湿关节痛、痈疔肿毒、毒蛇咬伤^[1-2]。牛弥菜醇 A 是匙羹藤降血糖的主要有效成分之一。韦建华等^[5]研究表明牛弥菜醇 A 能明显降低四氧嘧啶性糖尿病小

鼠的血糖值, 增强正常小鼠的负荷糖耐量, 对抗肾上腺素引起的小鼠血糖升高。目前采用 HPLC 测定匙羹藤叶中牛弥菜醇 A 的含量未见有公开报道, 本实验采用 HPLC 对广西产匙羹藤叶中的牛弥菜醇 A 进行了含量测定, 为广西匙羹藤叶质量控制方法的建立提供了科学依据。

1 材料

1.1 仪器 Agilent 1100 高效液相色谱仪, 含在线真空脱气机, 高压四元梯度泵, 标准自动进样器, 智能化柱温箱, 可变波长检测器, HP1100 色谱工作站; BP211D 型电子分析天平 (德国赛多利斯), KQ-200VDB 型双频数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司), Millipore Simlicity-185 超纯水器 (美国密里博公司)。

1.2 试药 匙羹藤叶采于广西南宁地区 (安吉、邕

[收稿日期] 2011-12-16

[基金项目] 广西自然科学基金项目 (桂科自 0229044); 广西教育厅科研项目 (桂教科 2001); 广西中医学院重点科研项目 (ZD2004010)

[第一作者] 丘琴, 博士研究生, 从事药学和中药学的教学和科研工作, Tel: 0771-3124407, E-mail: qiuqin1239@163.com

[通讯作者] * 甄汉深, 教授, 博士生导师, 从事药学和中药学的教学和科研工作, Tel: 0771-2918239, E-mail: 8zhen@163.com