

康乐鼻炎胶囊质量标准研究

饶伟源*, 兰保强, 李 茂, 孟夏临
(广西中医药研究院, 广西 南宁 530022)

[摘要] 目的: 建立康乐鼻炎胶囊的质量标准。方法: 采用 TLC 法对制剂中的白芷、麻黄、穿心莲、牡丹皮进行定性鉴别, 采用 HPLC 法对制剂中的黄芩苷、马来酸氯苯那敏进行含量测定。结果: TLC 法可检出白芷、麻黄、穿心莲、牡丹皮, 黄芩苷在 0.048 8~ 1.220 0 μg 范围内线性关系良好, 相关系数为 $r=0.999\ 9$, 平均回收率为 100.91%, RSD= 1.24%, 马来酸氯苯那敏在 0.016 5~ 0.412 0 μg 范围内线性关系良好, 相关系数为 $r=0.999\ 6$, 平均回收率为 98.95%, RSD= 1.61%。结论: 本法简便, 快速, 重复性好, 可作为本品的质量控制指标。

[关键词] 康乐鼻炎胶囊; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 黄芩苷; 马来酸氯苯那敏

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2009)03-0013-04

康乐鼻炎胶囊是根据卫生部《药品标准》中药成方制剂收载的“康乐鼻炎片”^[1]进行剂型改革而成, 由苍耳子、黄芩、白芷、麻黄、穿心莲、防风、广藿香、牡丹皮等 10 味药材加上原料药马来酸氯苯那敏组成。有清热解毒、疏风通窍的功效, 用于风热蕴毒而致的过敏性鼻炎、慢性单纯性鼻炎及鼻窦炎引起的头痛、鼻塞、流涕等^[1]。为了更好控制该制剂的质量, 本实验采用薄层色谱法对方剂中的穿心莲、麻黄、牡丹皮、白芷等进行薄层鉴别, 采用高效液相色谱法对该制剂中的黄芩、马来酸氯苯那敏进行含量测定, 结果表明本法操作简便、快速准确, 可用于该制剂的质量控制。

1 仪器与试剂

仪器: 日本岛津公司 LC-10A 高效液相色谱仪; SPD-10A 紫外检测器; 威玛通用多媒体色谱数据工作站。

马来酸氯苯那敏对照品(批号: 10753-200212)、黄芩苷对照品(批号: 110715-200212, 供含量测定用)、脱水穿心莲内酯对照品(批号: 110854-200305)、盐酸麻黄碱对照品(批号: 110713-200202)、白芷对照药材(批号: 0945-9903)、牡丹皮对照药材(批号: 0904-200007)均由中国药品生物制品检定所提供。

乙腈为色谱纯, 磷酸二氢钠、乙醇、磷酸为分析

纯, 水为重蒸水, 康乐鼻炎胶囊及阴性对照样品均由本院实验室提供。

2 方法与结果

2.1 鉴别试验

2.1.1 穿心莲的薄层鉴别 取本品 10 粒的内容物, 研细, 加乙醇 20 mL, 加热回流 30 min, 滤过, 滤液作为供试品溶液。另取缺穿心莲药材的阴性对照样品 4 g, 同法制成阴性对照溶液。再取脱水穿心莲内酯对照品, 用乙醇配制成每 1 mL 含 0.5 mg 的对照品溶液。分别吸取上述 3 种溶液各 10 μL , 点于同一硅胶 HF₂₅₄ 薄层板上, 以甲苯-三氯甲烷-丙酮(4:4:3)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(254 nm)下检视。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, 阴性无干扰。

2.1.2 麻黄的薄层鉴别 取本品 10 粒的内容物, 研细, 加浓氨试液 0.5 mL 及三氯甲烷 20 mL, 加热回流 1 h, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取缺麻黄药材的阴性对照样品 4 g, 同法制成阴性对照溶液。再取盐酸麻黄碱对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的对照品溶液。分别吸取上述 3 种溶液各 10 μL , 点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-甲醇-浓氨试液(20:5:0.5)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 0.5% 茚三酮试液, 置 105 $^{\circ}\text{C}$ 下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, 显相同颜色的斑点, 阴性无干扰。

2.1.3 牡丹皮的薄层鉴别 取本品 5 粒的内容物,

[收稿日期] 2008-06-23

[通讯作者] * 饶伟源, Tel: (0771) 5868874; E-mail: nm-

rwy163.com.cn@163.com

研细,加乙醇 20 mL,加热回流 30 min,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加水 15 mL 使溶解,用乙酸乙酯提取 2 次,每次 15 mL,合并乙酸乙酯液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取缺牡丹皮药材的阴性对照样品 2 g,同法制成阴性对照溶液。再取牡丹皮对照药材 1 g,加乙醇 15 mL,加热回流 1 h,同法制成对照药材溶液。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(5:4:0.5)为展开剂,展开,取出,晾干,置碘蒸气中熏 3 min。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。本法专属性强,阴性无干扰。

2.1.4 白芷的薄层鉴别 取本品 10 粒的内容物,研细,加甲醇 30 mL,置水浴上回流 30 min,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加水 20 mL 使溶解,用盐酸调 pH 值至 2~3,用乙酸乙酯提取 2 次,每次 15 mL,合并乙酸乙酯液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取缺白芷药材的阴性对照样品 4 g,同法制成阴性对照溶液。再取白芷对照药材 1.5 g,加乙醇 20 mL,加热回流 30 min,滤过,滤液浓缩到 1 mL,制成对照药材溶液,分别吸取上述 3 种溶液各 10 μ L,点于同一硅胶 G 薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(5:4:0.5)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外

光灯(254 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,阴性无干扰。

3 含量测定

3.1 黄芩苷的含量测定

3.1.1 色谱条件 Kromasil C₁₈柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m);流动相:乙腈-0.3%磷酸溶液(26:74)^[2]。流速:1.0 mL \cdot min⁻¹;检测波长:280 nm^[3];柱温:室温;进样量:10 μ L。理论塔板数按黄芩苷计算应不低于 4 000。

3.1.2 对照品溶液的制备 精密称取在 60 $^{\circ}$ C 减压干燥 4 h 的黄芩苷对照品适量,加 70%乙醇制成每 1 mL 含 40 μ g 的溶液,即得。

3.1.3 供试品溶液的制备 取本品 20 粒的内容物,研细,混匀,取约 0.1 g,精密称定,置锥形瓶中,精密加入 70%乙醇 50 mL,称定重量,超声处理(功率 250 W,频率 33 KHz) 30 min,放冷,再称定重量,用 70%乙醇补足减失的重量,摇匀,滤过,即为供试品溶液。

3.1.4 阴性干扰试验 取缺黄芩的阴性对照样品,按供试品溶液制备项下的方法提取,测定。结果阴性对照样品在黄芩苷出峰位置无吸收峰,表明其它成分对测定无干扰。见图 1。

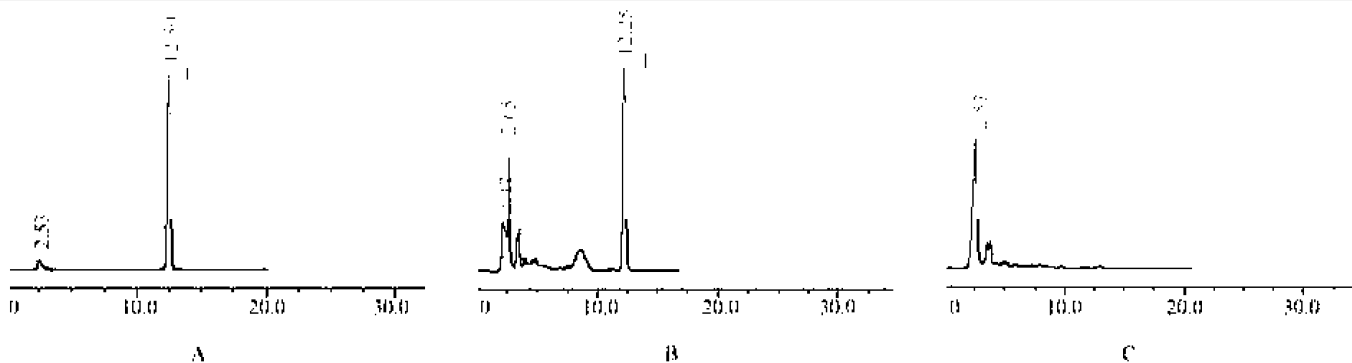


图 1 康乐鼻炎胶囊 HPLC 色谱图

A 黄芩苷对照品; B 样品; C 阴性

3.1.5 线性关系考察 精密称取黄芩苷对照品 12.20 mg,置 50 mL 量瓶中,加 70%乙醇使溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备溶液(浓度为 0.244 0 mg \cdot mL⁻¹)。精密量取对照品贮备溶液 0.2, 0.5, 1, 3, 5 mL,分别置 10 mL 量瓶中,加 70%乙醇稀释至刻度,摇匀,分别作为对照品溶液(浓度为 4.88, 12.20, 24.40, 73.20, 122.00 μ g \cdot mL⁻¹)按上述的色谱条件分别进样 10 μ L 测定。以黄芩苷对照品进样量(μ g)为横坐标(X),峰面积积分值为纵坐标(Y)绘制

标准曲线,得回归方程为: $Y = 2.8 \times 10^6 X + 2.0 \times 10^4$, ($r = 0.9999$)。结果表明,当进样量在 0.048 8~1.220 0 μ g 范围内时,黄芩苷进样量与峰面积积分值呈良好的线性关系。

3.1.6 精密度试验 对同一对照品溶液,按上述色谱条件,连续进样 5 次,5 次测定的 RSD 值为 0.68%,试验表明,本法的精密度良好。

3.1.7 重复性试验 对同一批样品(040906),按拟订的方法平行测定 5 份,测定结果的平均值为:

18.39 mg·g⁻¹, RSD= 0.90% (n= 5)。结果表明, 本法的重复性较好。

3.1.8 稳定性试验 在 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 分别精密吸取同一供试品溶液 10 μL 测定, 计算峰面积, RSD= 0.99%。试验表明, 在 12 h 内, 供试品稳定。

3.1.9 加样回收率测定 精密称取黄芩苷对照品 9.76 mg, 置 500 mL 量瓶中, 加 70% 乙醇使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液(浓度为 19.52 μg·mL⁻¹)。精密称取样品(040906, 黄芩苷含量为 18.39 mg·g⁻¹) 约 0.05 g, 平行取 5 份样, 分别精密加入上述黄芩苷对照品溶液 50 mL, 按供试品制备的方法提取、测定, 计算回收率, 结果见表 1。

表 1 黄芩苷回收率测定结果

样品	取样量 (g)	样品含量 (mg)	对照品加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.052 10	0.958 1	0.976 0	1.955 1	102.15		
2	0.052 21	0.960 1	0.976 0	1.925 1	98.87		
3	0.054 18	0.996 4	0.976 0	1.980 8	100.86	100.91	1.24
4	0.053 42	0.982 4	0.976 0	1.968 0	100.98		
5	0.053 73	0.988 1	0.976 0	1.980 5	101.68		

3.1.10 样品测定 按拟订的含量测定方法, 测定了本品 6 批样品中的黄芩苷含量, 结果见表 2。

表 2 样品测定结果(n= 2)

单位	040809	040820	040906	040915	040921	040926
(mg/粒)	5.88	6.36	7.35	5.53	7.15	6.72
RSD (%)	1.06	0.97	0.90	1.28	1.11	0.79

3.2 马来酸氯苯那敏的含量测定

3.2.1 色谱条件 Kromasil C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈- 0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钠溶液(磷酸调 pH 值至 2.8) (28.5: 71.5)^[4]。流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 225 nm; 柱温: 室温; 进样量: 10 μL。理论塔板数按氯苯那敏计算应不低于 3 500。

3.2.2 对照品溶液的制备 精密称取在 105 °C 干燥至恒重的马来酸氯苯那敏对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 20 μg 的溶液, 即得。

3.2.3 供试品溶液的制备 取本品 20 粒的内容物, 研匀, 取约 0.3 g, 精密称定, 置圆底烧瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 称定重量, 浸渍 30 min, 加热回流 20 min, 放冷, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 10 mL, 置 80 °C 水浴上蒸干, 残渣加水 20 mL 使溶解, 用浓氨试液调 pH 值至 9~ 10, 用三氯甲烷提取 5 次(20, 20, 15, 15, 10 mL), 合并提取液, 减压回收三氯甲烷, 残渣加甲醇使溶解, 转移至 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 滤液作为供试品溶液。

3.2.4 阴性干扰试验 取缺马来酸氯苯那敏的阴性对照样品 0.3 g, 按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液, 按 2.2.1 项下色谱条件测定。结果阴性对照溶液在氯苯那敏出峰位置无吸收峰, 表明处方中其它成分对测定无干扰(见图 2)。

3.2.5 线性关系考察 精密称取在 105 °C 干燥置恒重的马来酸氯苯那敏 10.30 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品贮备溶液。精密量取 0.4, 1.0, 2.0, 5.0, 10.0 mL 对照品溶液, 分别置 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 分别作为对照品溶液, 按 3.2.1 项下的色谱条件分别进样 10 μL 测定。以对照品进样量(μg) 为横坐标(X), 峰面积积分为纵坐标(Y) 绘制标准曲线, 则回归方程为: Y= 2.2 × 10⁶X + 1.9 × 10⁴, r= 0.999 6。结果表明, 当进样量在 0.016 5~ 0.412 0 μg 范围内时, 马来酸氯苯那敏对照品进样量与峰面积积分值呈良好的线性关系。

3.2.6 精密度试验 对同一对照品溶液, 连续测定 5 次, 测定的 RSD= 0.32%, 试验表明, 本法的精密度良好。

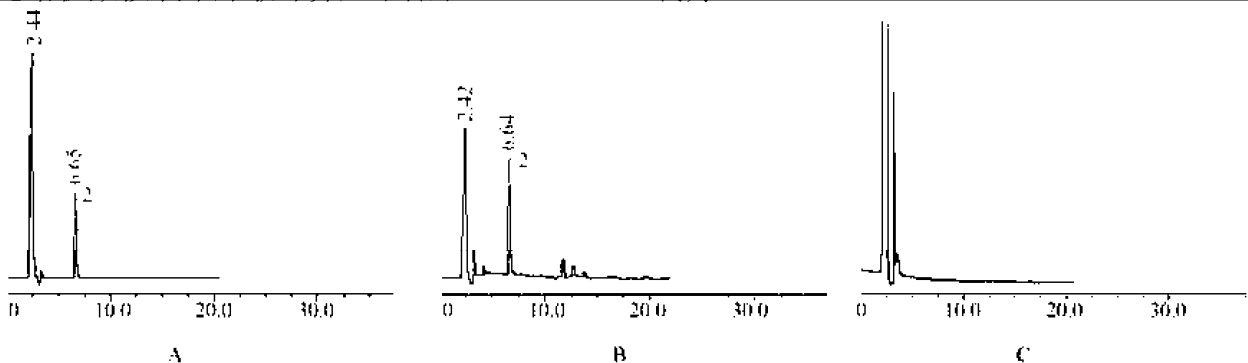


图 2 康乐鼻炎胶囊 HPLC 色谱图 A 马来酸氯苯那敏对照品; B 样品; C 阴性

3.2.7 重复性试验 对同一批样品(040906), 平行测定 5 份, 平均值为 0.664 mg/粒, RSD= 1.36% ($n=5$)。表明, 本法的重复性较好。

3.2.8 稳定性试验 在 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 分别精密吸取同一供试品溶液 10 mL 测定, 计算峰面积积分值, RSD= 0.54%。试验表明, 在 12 h 内, 供试品稳定。

3.2.9 加样回收率测定 精密量取标准曲线项下马来酸氯苯那敏对照品贮备液 25 mL 置 250 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液(每 1 mL 含马来酸氯苯那敏 0.010 3 mg)。精密称定样品(040906, 含量为 0.664 mg/粒, 平均装量为 0.399 5 g) 约 0.15 g, 平行取 5 份样, 分别精密加入上述马来酸氯苯那敏对照品溶液 25 mL, 按上述方法提取、测定, 计算回收率, 结果见表 3。

表 3 马来酸氯苯那敏回收率测定结果

样品	取样量 (g)	样品含 量(mg)	对照品加 入量(mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回 收率(%)	RSD (%)
1	0.152 8	0.254 0	0.257 5	0.510 9	99.77		
2	0.150 2	0.249 6	0.257 5	0.502 1	98.06		
3	0.150 3	0.249 8	0.257 5	0.495 7	95.50	97.58	1.61
4	0.153 2	0.254 6	0.257 5	0.504 1	96.89		
5	0.161 5	0.268 4	0.257 5	0.519 9	97.67		

3.2.10 样品测定 测定了本品 6 批样品中的马来酸氯苯那敏含量, 结果见表 4。

表 4 样品测定结果($n=2$)

单位	040622	040716	040721	040725	040729	040806
(mg/粒)	0.68	0.63	0.66	0.61	0.59	0.65
RSD(%)	1.04	0.98	1.71	0.84	1.27	0.62

4 讨论

本文建立了穿心莲、麻黄、牡丹皮、白芷等 4 个专属性强的薄层色谱鉴别。黄芩苷易溶于醇和水, 参照《中国药典》2000 年版一部“牛黄解毒片”【含量测定】项下使用 70% 乙醇作为提取溶剂, 对样品进行不同时间超声提取对比, 结果超声处理 30 min 已经能够提取完全, 故在含量测定时供试品溶液的制备采用 70% 乙醇超声处理 30 min。在马来酸氯苯那敏含量测定时, 因本品为中药复方制剂药味较多, 化学成分复杂, 而马来酸氯苯那敏在制剂中含量又较少, 在制备供试品溶液时, 如直接用甲醇提取, 因杂质峰较多, 所测成分与杂质峰无法分离, 如直接用三氯甲烷提取, 因胶囊粉末易结成团块, 导致提取不完全, 故采先用甲醇提取, 提取液蒸干, 残渣再用三氯甲烷提取得到较理想的效果, 精密度、重复性、回收率良好, 可作为本品的质量控制指标。

[参考文献]

- [1] 国家卫生部. 中华人民共和国卫生部药品标准[S]. 十二册, 标准号 WS3-B-2423-97.
- [2] 胡晓斌, 贺林, 刘智勇, 等. RP-HPLC 测定辛芩颗粒中黄芩苷的含量[J]. 华西药理学杂志, 2001, 16(6): 464-465.
- [3] 国家药典委员会. 中国人民共和国药典[S]. 一部, 2005. 212.
- [4] 周毅红, 冯学标, 皮立. 高效液相色谱法测定速效伤风胶囊中各组分的含量[J]. 广东药学, 2001, 11(6): 22-23.