

川贝止咳合剂质量标准研究

孙冬梅¹ 汪梦霞² 董玉娟²

(1 广东省中医药工程技术研究院, 广州, 510095; 2 广州中医药大学, 广州, 510405)

摘要 目的: 建立川贝止咳合剂的质量标准控制方法。方法: 采用薄层色谱(TLC)法对方中所含枳壳、桔梗进行定性鉴别; 采用高效液相色谱法测定方中柚皮苷的含量。结果: 薄层色谱法可鉴别出枳壳、桔梗, 且阴性无干扰; 柚皮苷在 160 ~ 800 ng 范围内呈良好线性关系, $r = 0.9999$, 平均回收率为 98.90%, $RSD = 1.32\%$ 。结论: 本方法操作简便、准确可靠、重现性好, 可作为川贝止咳合剂的质量控制方法。

关键词 川贝止咳合剂; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 质量标准; 柚皮苷

Study on Quality Standard of Chuanbeizhike Mixture

Sun Dongmei¹, Wang Mengxia², Dong Yujuan²

(1 Guangdong Research Institute of Traditional Chinese Medicine Manufacturing Technology, Guangzhou 510095, China;

2 Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

Abstract Objective: To establish the quality standard of Chuanbeizhike mixture. **Methods:** Thin layer chromatography (TLC) was used to identify Fructus Aurantii, Radix Platycodonis in Chuanbeizhike Mixture. Naringin in Fructus Aurantii was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). **Results:** The TLC spots of Fructus Aurantii and Radix Platycodonis were clear with good resolution and free of interference of negative samples. The calibration curve of HPLC was linear in the range of 160 ~ 800ng ($r = 0.9999$). The average recovery rate was 98.90%, $RSD = 1.32\%$. **Conclusion:** The method is rapid, curate, sensitive and reliable, and it can be used to control the quality of Chuanbeizhike Mixture.

Key Words Chuanbeizhike Mixture; TLC; HPLC; Quality standard; Naringin

中图分类号: R284 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2014.10.030

川贝止咳合剂由枳壳、桔梗、川贝、枇杷等中药组成, 具有祛痰止咳、散结利咽等功效。适用于感冒、急性慢性咽喉炎、急性慢性支气管炎引起的咳嗽、咽痛。为了更好地控制其质量, 保证其临床疗效, 本实验采用 TLC 法对其中所含枳壳、桔梗进行定性鉴别, 采用 HPLC 法对方中所含柚皮苷进行含量测定。

1 仪器与试药

1.1 仪器 BQ-Ⅱ型薄层自动铺板器(重庆南岸实验电器厂); CAMAG TLC SAMPLER 4 型薄层色谱自动点样仪(瑞士); CAMAG Reprostar 4 薄层成像系统(瑞士); Agilent1200 高效液相色谱仪(美国); DAD 检测器; 四元梯度泵, G2170AA 数据处理软件系统; Agilent TC C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); MettlerXS205DU 电子分析天平(瑞士); KQ5200DE 型数控超声波清洗器(昆山); 电热恒温水浴槽(上海); DHG-9070A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海); 美国 Bedford 公司 Milli-Q 超纯水制备仪。

1.2 试药 枳壳对照药材(批号 130807 ~ 201209)、桔梗对照药材(批号 130574 ~ 200809)、柚皮苷对照品(批号 120736 ~ 201135)均购于中国药品生物制品检定所; 川贝止咳合剂(批号 140318、140319、140320), 由广东省第二中医院制剂室提供)乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

2 薄层色谱定性鉴别

2.1 枳壳定性鉴别 取本品 100 mL, 以 4.3% NaOH 试液调 pH 值到 10, 用乙酸乙酯振荡提取两次, 每次 80 mL, 合并乙酸乙酯液, 蒸干, 残渣加甲醇 2 mL 使溶解, 作为川贝止咳合剂样品溶液。另取枳壳对照药材 0.5 g, 加 95% 乙醇 25 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为枳壳对照药材溶液。再取缺枳壳的阴性溶液 100 mL, 按样品溶液制备方法制成枳壳阴性对照溶液。根据薄层色谱法(《中华人民共和国药典》2010 年一部附录 VIB)试验, 分别吸取上述枳壳阴性对照溶液、枳壳对照药材溶液、川贝止咳

合剂样品溶液各 10 μL 点于同一硅胶 G-1% 羧甲基纤维素钠薄层板上,以氯仿-丙酮(2:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外灯(365nm)下观察。川贝止咳合剂样品色谱中,在与枳壳对照药材色谱相应位置显相同颜色斑点,且阴性对照无干扰(见图 1)。

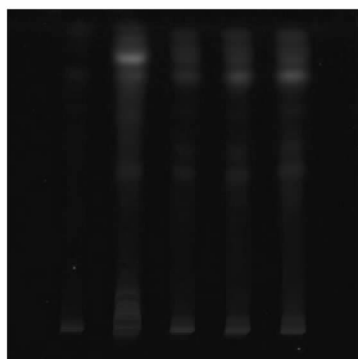


图 1 枳壳 TLC 图谱

(1、枳壳阴性对照,2、枳壳对照药材,3~5、川贝止咳合剂样品)

2.2 桔梗定性鉴别^[1] 取本品 10 mL,加稀盐酸 3 mL,回流 45 min,放冷,滤过,滤液,用氯仿振摇萃取两次,1 次 20 mL,合并氯仿液,蒸干,加甲醇 1 mL 使残渣溶解,作为川贝止咳合剂样品溶液。另取桔梗对照药材 1 g,加水 10 mL,稀盐酸 3 mL,回流 45 min,放冷,滤过,滤液,用氯仿振摇萃取两次,1 次 20 mL,合并氯仿液,蒸干,加甲醇 1 mL 使残渣溶解,作为桔梗对照药材溶液。再取缺桔梗的阴性溶液 10 mL,按川贝止咳合剂样品溶液制备方法制成桔梗阴性对照溶液。根据薄层色谱法(《中华人民共和国药典》2010 年版一部附录 VIB)试验,吸取桔梗阴性对照溶液 2 μL ,桔梗对照药材溶液 4 μL ,川贝止咳合剂样品溶液 2 μL ,分别点于同一硅胶 GF254-1% 羧甲基纤维素钠薄层板上,以氯仿-乙醚(1:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外灯(254 nm)下观察。川贝止咳合剂样品色谱中,在与桔梗对照药材色谱相应位置显相同颜色斑点,且阴性对照无干扰(见图 2)。

3 含量测定^[2]

3.1 色谱条件 以 C_{18} 为填充剂;流动相:甲基腈-水(20:80)(用磷酸调节 pH 值至 3);检测波长:283nm;流速:1 mL/min;柱温:25 $^{\circ}\text{C}$ 。按柚皮苷峰计算理论塔板数应不 <3000。

3.2 制备对照品溶液 精密称取柚皮苷对照品适量,加甲醇分别制成每 1 mL 含柚皮苷 80 μg 的溶液,即得。

3.3 制备供试品溶液和阴性供试品溶液 精密称取本品约 0.2 g,装入具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50

mL,称定重量,加热回流 1.5 h,放冷,重新称定重量,减失的重量用甲醇补足,摇匀,滤过。精密量取续滤液 10 mL,置 25 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得。同法制备阴性供试品溶液。

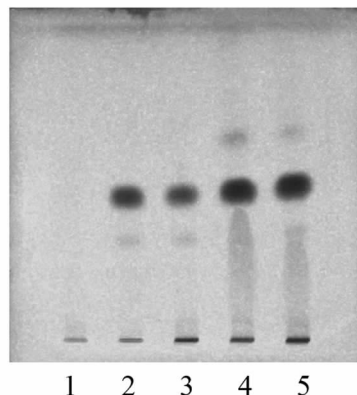


图 2 桔梗 TLC 图谱

(1、桔梗阴性对照,2、桔梗对照药材,3~5、川贝止咳合剂样品)

3.4 方法学考察

3.4.1 阴性干扰试验 分别吸取阴性供试品溶液、柚皮苷对照品溶液、供试品溶液各 10 μL 于高效液相色谱仪中进行试分离,样品与对照品在相同位置有较大吸收,阴性对照无干扰。见图 3~5。

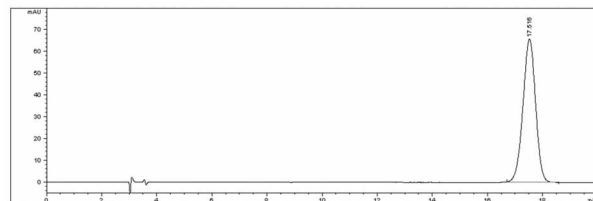


图 3 柚皮苷对照品溶液色谱图

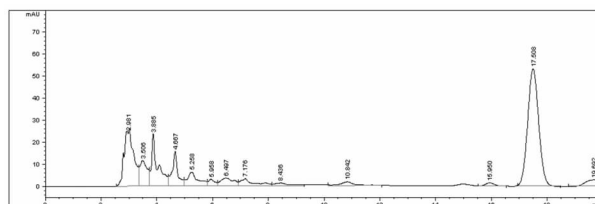


图 4 供试品溶液色谱图

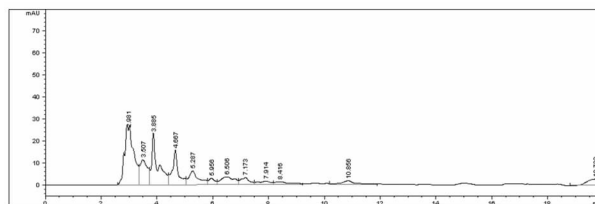


图 5 柚皮苷阴性供试品溶液色谱图

3.4.2 线性范围考察 精密吸取柚皮苷对照品溶液 2、4、6、8、10 mL,置 10 mL 容量瓶中,加甲醇稀释定容至刻度线,摇匀,制成浓度分别为 16、32、48、64、80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品溶液。精密吸取上述对照品溶液各 10 μL ,分别注入液相色谱仪,记录色谱图。以柚皮苷对

照品进样量($X, \mu\text{g}$)为横坐标,对照品峰面积(Y)为纵坐标,进行线性回归,得回归方程为 $Y = 30.7186X - 1.5065$ ($r = 0.9999$),结果表明柚皮苷进样量在 160 ~ 800 ng 范围内与峰面积积分值线性关系良好。

3.4.3 精密度考察 精密称取同一个批号的川贝止咳合剂(130318)样品约 0.2 g,依法制备供试品溶液,精密吸取 10 μL ,注入高效液相色谱仪,重复测定 6 次,以峰面积计算, RSD 为 0.32%,表明仪器精密度好。

3.4.4 重现性试验 取同一批样品(批号 130318)6 份,按上述供试品溶液方法和色谱条件测定,结果柚皮苷平均含量为 44.18 mg/g, RSD 为 1.29%,表明该方法重现性好。

3.4.5 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别在 0、2、4、6、8、12 h 进样 10 μL ,按上述色谱条件测定峰面积,结果柚皮苷峰面积 RSD 为 0.34%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

3.4.6 加样回收试 按加样回收率实验要求,精密称取已知含量的川贝止咳合剂样品(批号 130318)约 0.1 g,共 9 份,分别加入一定量的柚皮苷对照品,依法制备供试品溶液,精密吸取 10 μL ,注入高效液相色谱仪中,测定,计算,结果见表 1。

表 1 加样回收率实验结果($n = 9$)

序 号	样重 (g)	样品中柚皮 苷的量(mg)	柚皮苷的加 入量(mg)	柚皮苷测 得量(mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	0.1013	4.41	3.52	7.89	98.86		
2	0.1025	4.44	3.55	7.87	96.62		
3	0.1017	4.43	3.54	7.91	98.31		
4	0.1009	4.40	4.42	8.83	100.20		
5	0.1052	4.48	4.45	8.81	97.30	98.90	1.32
6	0.1063	4.49	4.51	8.99	99.78		
7	0.1037	4.45	5.34	9.78	99.81		
8	0.1054	4.48	5.38	9.80	98.88		
9	0.1046	4.46	5.35	9.83	100.37		

3.4.7 样品含量测定 取三批样品(批号 130318、130319、130320)约 1 g,精密称定,按上述供试品溶液处理方法制备供试品溶液,分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL ,注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定,以外标法计算含量,三批样品测定结果,见表 2。

表 2 样品含量测定结果($n = 3$)

样品批号	柚皮苷/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
130318	44.25
130319	43.87
130320	44.58

4 讨论

在枳壳的薄层鉴别中,按药典^[2]方法,供试品,对照品,阴性溶液用甲醇处理,以三氯甲烷-甲醇-水(13:6:2)下层溶液为展开剂,供试品与对照品相应位置上未见相同颜色的斑点。文献报道枳壳薄层色谱法^[3-4],按本文方法处理,供试品与对照品相应位置上显相同颜色的斑点,且阴性无干扰。

在桔梗的薄层鉴别中,按药典^[5]方法,供试品,对照品,阴性溶液用 7% 硫酸乙醇-水(1:3)混合溶液,三氯甲烷处理,以三氯甲烷-乙醚(2:1)为展开剂,供试品与对照品相应位置上未见相同颜色的斑点。文献报道桔梗薄层色谱法^[6-7]按本文^[1]方法处理,供试品与对照品相应位置上显相同颜色的斑点,且阴性无干扰。

枳壳为本制剂君药,柚皮苷为枳壳主要成分,故选择柚皮苷作控制本品质量的指标成分。含枳壳的中药复方制剂中柚皮苷的含量测定,文献报道高效液相色谱法^[8-10]。柚皮苷含量测定方法,参照 2010 版《中华人民共和国药典》一部枳壳含量测定项下方法,结果柚皮苷分离较好,保留时间适宜,通过方法学考察,本方法准确、可靠,可作为川贝止咳合剂的含量测定方法。本文所建立的方法操作简便、准确可靠、重现性好,可作为川贝止咳合剂的质量控制方法。

参考文献

- [1] 毛丹,许勇,陆继伟,等. 季申复方桔梗麻黄碱糖浆质量标准研究[J]. 中成药,2012,34(8):1518-1522.
- [2] 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,2010:229-230.
- [3] 谢峰,付志中. 四磨汤口服液薄层鉴别方法的改进[J]. 大家健康,2012,6(2):61.
- [4] 孙国红,刘昕. 止咳合剂中川贝母及枳壳的薄层色谱鉴别[J]. 时珍国医国药,2004,15(11):766.
- [5] 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,2010:259-260.
- [6] 李兵,桔梗清咽合剂的薄层鉴别研究[J]. 药物检测,2011,4(11B):125.
- [7] 张锦兴,李运景,李卓亚,等. 清肺合剂薄层色谱鉴别研究[J]. 亚太传统医药,2013,6(9):30-31.
- [8] 潘馨. 绿衣枳壳中柚皮苷含量测定方法的研究[J]. 中南药学,2005,3(2):82-83.
- [9] 崔宇宏,常海萍,史宪海. 对枳壳中柚皮苷含量测定方法的改进[J]. 中国药品标准,2005,6(1):57-59.
- [10] 郭琦丽,吕武清,曾莉萍,等. HPLC 测定陈皮枳壳药对提取物中柚皮苷橙皮苷和新橙皮苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(20):100-102.