

复方小儿止咳口服溶液的质量标准提高研究^Δ

张敏新*, 黄爱文, 宋洪涛^Δ(南京军区福州总医院药学科, 福州 350025)

中图分类号 R917;R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)27-3855-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.27.37

摘要 目的:优化和提高复方小儿止咳口服溶液的质量标准。方法:采用薄层色谱法(TLC)对制剂中的甘草进行定性鉴别;采用化学反应法对制剂中吐根酞、氯化铵进行定性鉴别;采用高效液相色谱法(HPLC)测定制剂中甘草酸铵的含量:色谱柱为Agilent Zorbax XDB C₁₈,流动相为乙腈-0.2 mol/L 乙酸铵溶液(20:80, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为250 nm,柱温为30 ℃,进样量为10 μl。结果:甘草的TLC斑点清晰,分离良好,阴性对照无干扰。吐根酞、氯化铵的鉴别反应阳性特征显著。甘草酸铵检测质量浓度线性范围为6.08~72.96 μg/ml($r=0.999\ 9$);精密度、稳定性、重复性试验的RSD<1.0%;加样回收率为99.69%~100.28%(RSD=0.20%, $n=6$)。结论:经优化和提高的标准可有效控制复方小儿止咳口服溶液的质量。

关键词 复方小儿止咳口服溶液;质量标准;薄层色谱法;高效液相色谱法

Study on the Improving the Quality Standard for Compound Pediatric Anticough Oral Solution

ZHANG Minxin, HUANG Aiwen, SONG Hongtao(Dept. of Pharmacy, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command, PLA, Fuzhou 350025, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize and improve the quality standard for Compound pediatric anticough oral solution. METHODS: TLC was adopted for the qualitative identification of *Glycyrrhiza uralensis*; chemical reaction was adopted for the qualitative identification of ipecac tincture, ammonium chloride; and HPLC was adopted for the content determination of ammonium glycyrrhizinate: the column was Agilent Zorbax XDB C₁₈ with mobile phase of acetonitrile-0.2 mol/L ammonium acetate (20:80, V/V) at a flow rate of 1.0 ml/min, the detection wavelength was 250 nm, column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 10 μl. RESULTS: TLC spots of *G. uralensis* were clear and well-separated, negative control without interference. Differential response of ipecac tincture and ammonium chloride showed significant positive characteristics. The linear range of ammonium glycyrrhizinate was 6.08-72.96 μg/ml ($r=0.999\ 9$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 1.0%; recovery was 99.69%-100.28% (RSD=0.20%, $n=6$). CONCLUSIONS: Optimizing and improving the standard are helpful for the quality control of Compound pediatric anticough oral solution.

KEYWORDS Compound pediatric anticough oral solution; Quality standard; TLC; HPLC

复方小儿止咳口服溶液为本院小儿科验方制剂,临床主要用于小儿咳嗽、痰多。该药原标准鉴别项只有甘草流浸膏、单糖浆、吐根酞和氯化铵的化学法鉴别,无相应的薄层色谱法(TLC)鉴别,且含量测定是以滴定法测定处方中的氯化铵,由于滴定结果颜色干扰大,难以判断滴定终点,因此误差较大。为有效控制本制剂的质量,笔者制定了本复方制剂中甘草(TLC法)、吐根、氯化铵(化学反应法)的鉴别方法,并采用高效液相色谱法(HPLC)测定有效成分甘草酸铵的含量。

1 材料

1.1 仪器

1200型HPLC仪,包括G1316A型二极管阵列检测器、Chemstation色谱工作站(美国Agilent公司);AL204型分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];KQ-800KDE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

复方小儿止咳口服溶液(本院制剂室自制,批号:

Δ基金项目:军队医疗机构制剂标准提高科研专项课题(No.14ZJZ17)

*药师。研究方向:药物分析。电话:0591-22859169。E-mail:280361089@qq.com

#通信作者:主任药师,教授,博士生导师,博士。研究方向:药物新剂型与制剂新技术。电话:0591-22859459。E-mail:sohoto@vip.163.com

20153161、20153162、20153163,规格:100 ml/瓶);甘草流浸膏(宝鸡金森制药有限公司,批号:20150203);甘草苷对照品(批号:111610-201106,纯度>98%)、甘草对照药材(批号:120904-201318)、甘草酸铵对照品(批号:110731-201116,纯度>98%)均购自中国食品药品检定研究院;甲醇、乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果^[1-2]

2.1 甘草的TLC鉴别

取样品20 ml,以水饱和的正丁醇提取2次,每次20 ml,合并正丁醇液,用正丁醇饱和的水洗涤3次,弃去水层,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇1 ml使溶解,作为供试品溶液;取甘草苷对照品适量,加甲醇制成甘草苷质量浓度为1 mg/ml的对照品溶液;再取甘草对照药材粉末1 g,加甲醇30 ml,超声(功率:250 W,频率:40 kHz,下同)处理30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水40 ml使溶解,用水饱和的正丁醇提取3次,每次20 ml,合并正丁醇液,用正丁醇饱和的水洗涤3次,弃去水液,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇3 ml使溶解,作为对照药材溶液;另取缺甘草流浸膏的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照溶液。按TLC法[2015年版《中国药典》(一部)]^[3]试验,吸取上述4种溶液各5 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以乙酸乙酯-甲酸-冰醋酸-水(15:1:1:2, V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,于105 ℃加热至斑点显色清晰,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果,供试品色谱中,在与对照

药材和对照品色谱对应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰,详见图1。

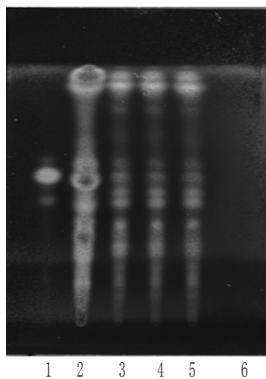


图1 甘草的薄层色谱图

1.对照品;2.对照药材;3~5.供试品;6.阴性对照

Fig 1 TLC chromatograms of *G. uralensis*

1.reference substance; 2.control medicines; 3-5.test samples; 6.negative control

2.2 吐根酞的鉴别

取样品 10 ml,加水 5 ml,加氨试液 2 ml 使成碱性;加二氯甲烷 20 ml 振摇,分取二氯甲烷层,挥干,残渣加稀硫酸 1~2 滴,混匀,加硫酸 2 滴及钼酸少许,静置 30 min,观察样品颜色。结果,样品显绿色,为阳性反应。

2.3 氯化铵的鉴别

取样品 2 份,每份 10 ml,置于 50 ml 纳氏比色管中。一份加硝酸银试液 1.0 ml,摇匀,放置 10 min,反复滤过,至滤液完全澄清,加规定量的标准氯化钠溶液,再加水稀释至 50 ml,摇匀,暗处放置 5 min,作为对照溶液;另一份加硝酸银试液 1.0 ml,再加水稀释至 50 ml,摇匀,暗处放置 5 min,与对照溶液比较。结果,样品呈阳性反应。

2.4 含量测定

2.4.1 色谱条件 色谱柱:Agilent Zorbax XDB C₁₈(150 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈-0.2mol/L 乙酸铵(20:80,V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:250 nm;柱温:30 ℃;进样量:10 μl。

2.4.2 对照品溶液的制备 精密称取甘草酸铵对照品适量,加流动相制成甘草酸铵质量浓度为 300 μg/ml 的对照品贮备液。精密量取上述对照品贮备液适量,加流动相制成甘草酸铵质量浓度为 20 μg/ml 的对照品溶液。

2.4.3 供试品溶液的制备 (1) 复方小儿止咳口服溶液供试品 精密量取样品 1 ml,置于 50 ml 量瓶中,加甲醇 30 ml,超声处理 30 min,取出,放冷,用甲醇定容,摇匀,滤过,精密量取续滤液 5 ml,置于 25 ml 量瓶中,加流动相定容,摇匀,即得。(2) 甘草流浸膏供试品溶液 精密量取甘草流浸膏 2 ml,置于 100 ml 量瓶中,加甲醇 40 ml,超声处理 30 min,取出,放冷,用甲醇定容,摇匀,滤过,精密量取续滤液 10 ml,置于 50 ml 量瓶中,加流动相定容,摇匀,即得。

2.4.4 阴性对照溶液的制备 按复方小儿止咳口服溶液处方和制备工艺制备缺甘草流浸膏的阴性样品,并按“2.4.3”项下方法制成阴性对照溶液。

2.4.5 专属性试验 取上述对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液适量,按“2.4.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图2。结果,在阴性对照溶液色谱图上甘草酸铵出峰相应位置未见色谱峰,表明本方法专属性良好。

2.4.6 线性关系考察 分别精密量取“2.4.2”项下对照品贮备液适量,置于 10 ml 量瓶中,用流动相定容,摇匀,得质量浓度

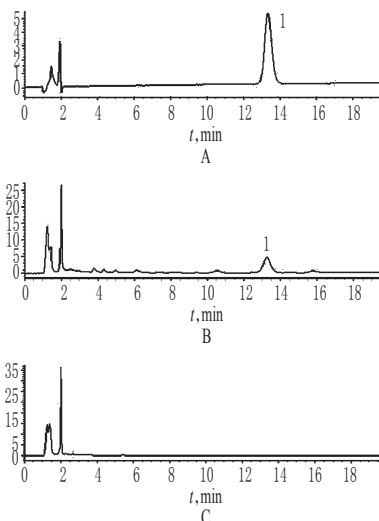


图2 高效液相色谱图

A.对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.甘草酸铵

Fig 2 HPLC chromatograms

A.reference substance; B.test sample; C.negative control; 1.ammonium glycyrrhizinate

为 6.08~72.96 μg/ml 的系列对照品溶液。精密量取上述系列对照品溶液各 10 μl,按“2.4.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以甘草酸铵质量浓度(x,μg/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $y=5\ 188.40x-2.67$ ($r=0.999\ 9$)。结果表明,甘草酸铵检测质量浓度线性范围为 6.08~72.96 μg/ml。

2.4.7 精密度试验 取“2.4.2”项下对照品溶液适量,按“2.4.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次,记录峰面积。结果,甘草酸铵峰面积的 RSD=0.74%($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.4.8 稳定性试验 取“2.4.3”项下供试品溶液(批号:20153161)适量,分别于室温下放置 0、2、4、6、8、12 h 时按“2.4.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,甘草酸铵峰面积的 RSD=0.76%($n=6$),表明供试品溶液在 12 h 内基本稳定。

2.4.9 重复性试验 精密称取同一批样品(批号:20153161)适量,按“2.4.3”项下方法制备供试品溶液,共 6 份,再按“2.4.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量。结果,甘草酸铵含量为 3.55 mg/ml, RSD=0.78%($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.4.10 加样回收率试验 取已知含量样品(批号:20153161)适量,共 9 份,每份 1 ml,分别加入低、中、高质量的甘草酸铵对照品,按“2.4.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.4.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表 1。

2.4.11 样品含量测定 取 3 批样品各适量,分别按“2.4.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.4.1”项下色谱条件进样测定,计算样品含量,结果见表 2。

3 讨论

2015 年版《中国药典》中甘草流浸膏鉴别用的薄层板为 1% 氢氧化钠溶液制备的硅胶 G 薄层板,经试验发现,上述薄层板与本试验所用薄层板的展开效果比较,除了比移值不同外,分离效果基本相同。故最终选择了硅胶 G 薄层板。

由于吐根对照药材、吐根碱、吐根次碱等为毒性对照品,皆无法购得,故其只能以化学反应法进行鉴别。同时,阴性溶

市售栀子药材的质量标准研究

王 晓*,黄 南(台州市第一人民医院,浙江 台州 318020)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)27-3857-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.27.38

摘 要 目的:建立市售栀子药材的质量标准。方法:测定药材的水分、总灰分和浸出物。采用高效液相色谱法测定药材中栀子苷、芦丁、西红花苷 I 和西红花苷 II 的含量:色谱柱为 Waters Xbridge -C₁₈,流动相为乙腈-0.2% 磷酸(梯度洗脱,栀子苷、芦丁)、甲醇-水(45:55, V/V,西红花苷 I、西红花苷 II),流速为 1.0 ml/min,检测波长为 256 nm(栀子苷、芦丁)、440 nm(西红花苷 I、西红花苷 II),柱温为 30 ℃,进样量为 10 μl(栀子苷、芦丁)、5 μl(西红花苷 I、西红花苷 II)。结果:栀子药材的水分、总灰分和浸出物分别为 5.8%~8.4%、3.7%~5.9%和 29.5%~37.9%。栀子苷、芦丁、西红花苷 I 和西红花苷 II 检测质量浓度线性范围分别为 162.08~1 620.84 μg/ml($r=0.999\ 9$)、2.07~20.72 μg/ml($r=0.999\ 9$)、8.04~80.41 μg/ml($r=0.999\ 9$)、1.05~10.53 μg/ml($r=0.999\ 9$);精密密度、稳定性、重复性试验的 RSD<2%;加样回收率分别为 98.65%~101.43%(RSD=1.09%, $n=6$)、97.97%~101.83%(RSD=1.39%, $n=6$)、97.97%~101.30%(RSD=1.36%, $n=6$)、98.49%~103.04%(RSD=1.84%, $n=6$)。结论:该研究所建标准可用于市售栀子药材的质量控制。

关键词 栀子;质量控制;栀子苷;芦丁;西红花苷 I;西红花苷 II;高效液相色谱法

Study on the Quality Standard for *Gardenia jasminoides* Commercially Available
WANG Xiao,HUANG Nan(Taizhou First People's Hospital, Zhejiang Taizhou 318020, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard for *Gardenia jasminoides*. METHODS: The moisture, total ash and extract were determined. HPLC was used for contents determination of geniposide, rutin, crocin I and crocin II: the column was Waters Xbridge-C₁₈ with mobile phase of acetonitrile-0.2% phosphoric acid (gradient elution, gardenia and rutin), methanol-water (45:55, V/V, crocin I, crocin II) at a flow rate of 1.0 ml/min; detection wavelength was 256 nm for gardenia and rutin, 440 nm for crocin I, crocin II; column temperature was 30 ℃; injection volume was 10 μl for gardenia and rutin, 5 μl for crocin I, crocin II. RESULTS: The moisture total ash and ethanol-soluble extract of *G. jasminoides* were 5.8%-8.4%, 3.7%-5.9% and 29.5%-37.9%, respectively. The linear range was 162.08-1 620.84 μg/ml for geniposide ($r=0.999\ 9$), 2.07-20.72 μg/ml for rutin ($r=0.999\ 9$), 8.04-80.41 μg/ml for crocin I ($r=0.999\ 9$) and 1.05-10.53 μg/ml for crocin II ($r=0.999\ 9$); RSDs of precision, stability and reproducibility test were lower than 2%; recoveries were 99.33%-101.43% (RSD=1.09%, $n=6$), 97.97%-101.83% (RSD=1.39%, $n=6$), 97.97%-101.30% (RSD=1.36%, $n=6$) and 98.65%-103.04% (RSD=1.84%, $n=6$). CONCLUSIONS: The established standard can be used for the quality control of *G. jasminoides* commercially available.

KEYWORDS *Gardenia jasminoides*; Quality control; Geniposide; Rutin; Crocin I; Crocin II; HPLC

液不显绿色反应,而受试品显绿色,表明本方法可用于本制剂中吐根的鉴别。

表 1 加样回收率试验结果($n=9$)

Tab 1 Results of recovery test($n=9$)

样品含 量,mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收 率,%	平均加样回 收率,%	RSD, %
3.55	2.84	6.38	99.84		
3.55	2.84	6.37	99.69		
3.55	2.84	6.40	100.16		
3.55	3.55	7.10	100.04		
3.55	3.55	7.12	100.28	100.08	0.20
3.55	3.55	7.11	100.14		
3.55	4.26	7.81	100.05		
3.55	4.26	7.83	100.26		
3.55	4.26	7.83	100.26		

2015 年版《中国药典》(二部)中氯化铵原料、氯化铵片皆是以硝酸银滴定法对其含量测定,但经反复试验发现,本制剂中的甘草流浸膏中的某成分可与银离子结合,使含量测定值

偏高(约为 120%)。故最终不将其列入质量标准中。

表 2 样品含量测定结果($n=3$)

Tab 2 Results of content determination of samples($n=3$)

样品批号	甘草酸铵含量,mg/ml	平均值,mg/ml
20153161	3.55	
20153162	3.57	3.55
20153163	3.56	

综上所述,经优化和提高的标准可有效控制复方小儿止咳口服溶液的质量。

参考文献

[1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015 年版.北京:中国医药科技出版社,2010:399.
[2] 巩伟,赵豫,赵庆华,等.十一味参龙口服液的质量标准研究[J].中国药房,2014,25(35):3 323.
[3] 卫生部药政局.中国医院制剂规范:西药制剂[S].2 版.北京:人民卫生出版社,1995:55.

(收稿日期:2015-09-14 修回日期:2015-11-08)

(编辑:张 静)

* 中药师。研究方向:中成药、中药材(饮片)质量控制。电话:0576-4016903