

清肺止咳胶囊的质量标准研究

丁菊英^{1*}, 夏晓君², 黄新刚¹, 王莹莹¹, 王晓坤¹, 王晓娜¹(1.胜利油田中心医院药学部, 山东东营 257034; 2.解放军第107医院药剂科, 山东烟台 264002)

中图分类号 R283.65;R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)27-2553-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.27.19

摘要 目的:建立清肺止咳胶囊的质量标准。方法:采用薄层色谱(TLC)法定性鉴别清肺止咳胶囊中的牡丹皮、栀子、陈皮、葛根、桔梗;采用高效液相色谱法同时测定制剂中甘草苷、柚皮苷、橙皮苷的含量:色谱柱为Kromasil ODS C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-0.3%磷酸溶液(27:73, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为280 nm,柱温为35 ℃。结果:TLC斑点清晰集中、分离良好。甘草苷、柚皮苷、橙皮苷的质量浓度分别在2.05~41.00、7.01~140.20、7.18~143.60 μg/ml范围内与各自峰面积积分值呈良好的线性关系(r 分别为0.999 8、0.999 7、0.999 9);三者精密度、稳定性、重复性试验的RSD<2%;平均加样回收率分别为99.23%(RSD=1.53%, $n=9$)、99.43%(RSD=1.41%, $n=9$)、98.73%(RSD=0.72%, $n=9$)。结论:所建标准可用于清肺止咳胶囊的质量控制。

关键词 清肺止咳胶囊;质量标准;薄层色谱法;高效液相色谱法;甘草苷;柚皮苷;橙皮苷

Study on the Quality Standard of Qingfei Zhike Granules

DING Ju-ying¹, XIA Xiao-jun², HUANG Xin-gang¹, WANG Ying-ying¹, WANG Xiao-kun¹, WANG Xiao-na¹(1. Dept. of Pharmacy, Shengli Oilfield Central Hospital, Shandong Dongying 257034, China; 2. Dept. of Pharmacy, No. 107 Hospital of PLA, Shandong Yantai 264002, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standards of Qingfei zhike granules. METHODS: TLC was used to identify *Paeonia suffruticosa*, *Gardenia jasminoides*, *Citrus reticulata*, *Pueraria lobata* and *Platycodon grandiflorum*. The contents of liquiritin, naringin and hesperidin in the granules were determined by HPLC. The determination was performed on Kromasil ODS C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm) column with mobile phase consisted of methanol-0.3% phosphoric acid (27:73, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 280 nm and column temperature was 35 ℃. RESULTS: TLC spots were clear, concentrated and well-separated. The linear range of liquiritin, naringin and hesperidin were 2.05-41.00 μg/ml ($r=0.999 8$), 7.01-140.20 μg/ml ($r=0.999 7$) and 7.18-143.60 μg/ml ($r=0.999 9$), respectively. RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 2%; average recoveries were 99.23% for liquiritin (RSD=1.53%, $n=9$), 99.43% for naringin (RSD=1.41%, $n=9$) and 98.73% for hesperidin (RSD=0.72%, $n=9$). CONCLUSIONS: The standard can be used for the quality control of Qingfei zhike granules.

KEYWORDS Qingfei zhike granules; Quality standards; TLC; HPLC; Liquiritin; Naringin; Hesperidin

清肺止咳胶囊是胜利油田中心医院应用多年的纯中药制剂红杏止咳合剂(批准文号:鲁药制字Z03080065)经过加减剂型改进而成,由化橘红、炒苦杏仁、陈皮、牡丹皮、葛根、甘草、百部等十几味药组成,具有解热化痰、清肺止咳之功效,用于治疗外感风寒、痰浊阻肺所致感冒发热。方中化橘红是君药,主要含柚皮苷;陈皮是臣药,主要含橙皮苷;甘草是佐药,主要含甘草苷。为进一步保证该制剂的临床疗效,更好地控制其内在质量,笔者建立了该制剂的质量标准,采用薄层色谱(TLC)法定性鉴别方中牡丹皮、栀子、陈皮、葛根、桔梗,并采用高效液相色谱法同时测定方中柚皮苷、橙皮苷、甘草苷的含量。

1 材料

1.1 仪器

2695-2996型HPLC仪(美国Waters公司);AE240型电子天平(瑞士Mettler Toledo公司);KQ-500 DE型超声波提取器

* 副主任药师。研究方向:医院药学。电话:0546-8779328。E-mail:dingjuying719@126.com

(昆山市超声仪器有限公司,功率:500 W,频率:40 kHz)。

1.2 药品与试剂

清肺止咳胶囊(笔者自制,批号:130122、130208、130129);甘草苷(批号:111610-200503)、柚皮苷(批号:110722-200309)、橙皮苷(批号:110721-200512)、丹皮酚(批号:110708-200506)、栀子苷(批号:110749-200511)、葛根素(批号:110752-200511)对照品与桔梗对照药材(批号:121028-200507)均购自中国食品药品检定研究院;甲醇为色谱纯,水为纯化水,其余试剂均为分析纯;硅胶G(青岛裕民源硅胶试剂厂)。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别^[1]

2.1.1 牡丹皮的TLC鉴别 取本品内容物10 g,研细,加乙醚50 ml,超声处理30 min,滤过,滤液挥干,残渣加丙酮2 ml使溶解,作为供试品溶液。另取丹皮酚对照品,加丙酮制成每1 ml含1 mg的溶液,作为对照品溶液。再取处方中去除牡丹皮的

其他药味,按处方比例制成缺牡丹皮的阴性样品,同供试品溶液制法制成阴性对照溶液。照TLC法^[1]试验,吸取阴性对照溶液10 μl、供试品溶液10~20 μl、对照品溶液5 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯(5:1, V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以盐酸酸性5%三氯化铁乙醇溶液,于105℃加热至斑点显色清晰,日光下检视。结果,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;阴性对照无干扰。牡丹皮的TLC图见图1。

2.1.2 栀子的TLC鉴别 取本品内容物10g,研细,加无水乙醇30ml,超声处理30min,滤过,滤液蒸干,残渣加无水乙醇2ml使溶解,作为供试品溶液。另取栀子苷对照品,加丙酮制成每1ml含0.5mg的溶液,作为对照品溶液。再取处方中去除栀子的其他药味,按处方比例制成缺栀子的阴性样品,同供试品溶液制法制成阴性对照溶液。照TLC法^[1]试验,吸取上述3种溶液各5 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-甲醇(3:1, 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,日光下检视。结果,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;阴性对照无干扰。栀子的TLC图见图2。

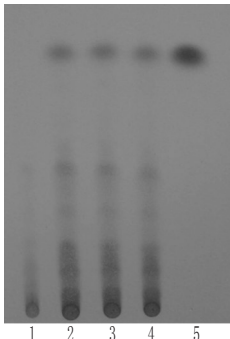


图1 牡丹皮的TLC图

1. 阴性对照; 2~4. 供试品; 5. 丹皮酚对照品

Fig 1 TLC of *Paeonia suffruticosa*

1. negative control; 2-4. test samples; 5. phenol control

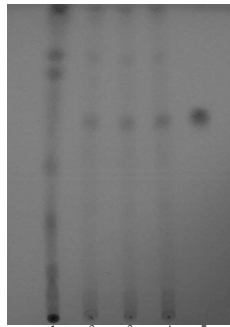


图2 栀子的TLC图

1. 阴性对照; 2~4. 供试品; 5. 栀子苷对照品

Fig 2 TLC of *Gardenia jasminoides*

1. negative control; 2-4. test samples; 5. geniposide control

2.1.3 陈皮的TLC鉴别 取本品内容物10g,研细,加甲醇50ml,超声处理30min,滤过,滤液蒸干,残渣加水20ml使溶解,用乙酸乙酯振摇提取3次,每次20ml,合并乙酸乙酯液,蒸干,残渣加甲醇2ml使溶解,作为供试品溶液。另取橙皮苷对照品,加甲醇制成每1ml含1mg的溶液,作为对照品溶液。取处方中去除陈皮的其他药味,按处方比例制成缺陈皮的阴性样品,同供试品溶液制法制成阴性对照溶液。照TLC法^[1]试验,吸取上述3种溶液各5 μl,分别点于同一用0.5%氢氧化钠溶液制备的硅胶G薄层板上,以乙酸乙酯-甲醇-水(100:17:13, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以三氯化铝试液,置紫外光灯(365nm)下检视。结果,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点;阴性对照无干扰。陈皮的TLC图见图3。

2.1.4 葛根的TLC鉴别 取本品内容物10g,研细,加甲醇50ml,置水浴上加热回流1h,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加水20ml使溶解,用乙酸乙酯振摇提取3次,每次20ml,合并乙酸乙酯液,蒸干,残渣加甲醇2ml使溶解,作为供试品溶液。另取

葛根素对照品,加甲醇制成每1ml含1mg的溶液,作为对照品溶液。再取处方中去除葛根的其他药味,按处方比例制成缺葛根的阴性样品,同供试品溶液制法制成阴性对照溶液。照TLC法^[1]试验,吸取上述3种溶液各5 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-水(7:2.5:0.25, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置氨蒸汽中熏15min,置紫外光灯(365nm)下检视。结果,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点;阴性对照无干扰。葛根的TLC图见图4。

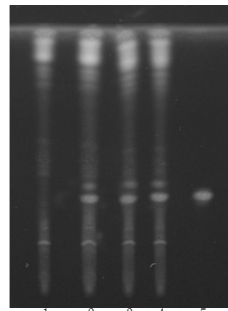


图3 陈皮的TLC图

1. 阴性对照; 2~4. 供试品; 5. 橙皮苷对照品

Fig 3 TLC of *Citrus reticulata*

1. negative control; 2-4. test samples; 5. puerarin control

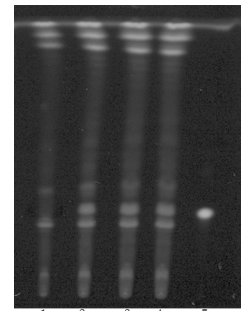


图4 葛根的TLC图

1. 阴性对照; 2~4. 供试品; 5. 葛根素对照品

Fig 4 TLC of *Pueraria lobata*

1. negative control; 2-4. test samples; 5. hesperidin control

2.1.5 桔梗的TLC鉴别 取本品内容物10g,研细,加7%硫酸乙醇-水(1:3, V/V)混合溶液100ml,加热回流3h,放冷,用三氯甲烷振摇提取2次,每次20ml,合并三氯甲烷液,加水30ml洗涤,弃去洗液,三氯甲烷液用无水硫酸钠脱水,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇1ml使溶解,作为供试品溶液。另取桔梗对照药材1g,同法制成对照药材溶液。再取处方中去除桔梗的其他药味,按处方比例制成缺桔梗的阴性样品,同供试品溶液制法制成阴性对照溶液。照TLC法^[1]试验,吸取上述3种溶液各10 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-乙醚(1:1, 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,日光下检视。结果,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。桔梗的TLC图见图5。

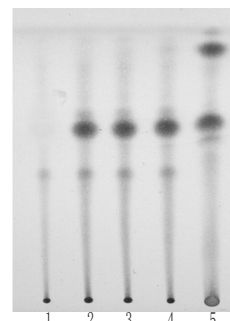


图5 桔梗的TLC图

1. 阴性对照; 2~4. 供试品; 5. 桔梗对照药材

Fig 5 TLC of *Platycodon grandiflorum*

1. negative control; 2-4. test samples; 5. Platycodonis Radix reference standard

2.2 含量测定^[2-9]

2.2.1 色谱条件 色谱柱:Kromasil ODS C₁₈(250 mm×4.5 mm, 5 μm);流动相:甲醇-0.3%磷酸溶液(27:73, V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:280 nm;柱温:35 ℃;进样量:10 μl。

2.2.2 混合对照品溶液的制备 精密称取甘草苷、柚皮苷、橙皮苷对照品各适量,加甲醇制备成质量浓度分别为20.5、70.1、71.8 μg/ml的混合对照品溶液,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品内容物1.0 g,精密称定,精密加入甲醇25 ml,称定质量,超声处理30 min,再次称定质量,用甲醇补足减失的质量,滤过,取续滤液,即得。

2.2.4 阴性对照溶液的制备 取处方中去除甘草、化橘红、陈皮的其他药味,按处方比例制成阴性样品,再按“2.2.3”项下方法制成阴性对照溶液,即得。

2.2.5 系统适用性试验 取“2.2.2”~“2.2.4”项下3种溶液各适量,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果显示,在对照品溶液和供试品溶液色谱图相应位置上,甘草苷、柚皮苷、橙皮苷分别有相同保留时间的色谱峰,且阴性对照无干扰。色谱见图6。

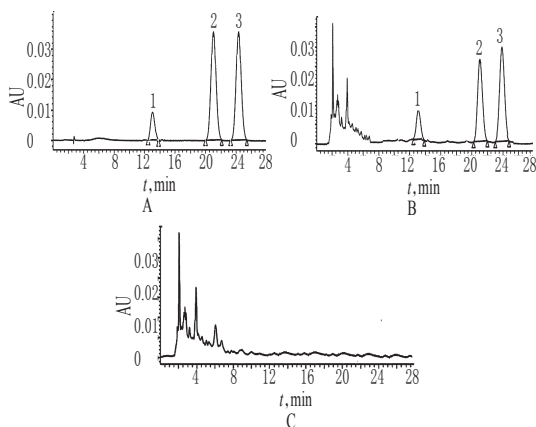


图6 高效液相色谱图

A.混合对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.甘草苷;2.柚皮苷;3.橙皮苷

Fig 6 HPLC chromatograms

A.mixed control; B.test samples; C.negative control; 1. liquiritin; 2. naringin; 3. hesperidin

2.2.6 线性关系考察 分别取混合对照品溶液1、5、10、15、20 μl,按上述色谱条件进样,测定峰面积。由峰面积积分值(y)对照品质量浓度(x)绘制工作曲线,得甘草苷、柚皮苷、橙皮苷的回归方程分别为 $y=61\ 869x+9\ 637$ ($r=0.999\ 8, n=5$)、 $y=160\ 609x-29\ 935$ ($r=0.999\ 7, n=5$)、 $y=165\ 543x-13\ 250$ ($r=0.999\ 9, n=5$)。结果表明,甘草苷、柚皮苷、橙皮苷质量浓度在2.05~41.00 μg/ml、7.01~140.20 μg/ml、7.18~143.60 μg/ml范围内与其峰面积积分值呈良好线性关系。

2.2.7 精密度的试验 取同一混合对照品溶液适量,按上述色谱条件连续进样5次,测定峰面积。结果,甘草苷、柚皮苷、橙皮苷的RSD分别为1.33%、1.12%、0.68%(n均为5),表明仪器精密度的良好。

2.2.8 稳定性试验 取同一供试品溶液适量,分别于0、2、4、6、8 h按上述色谱条件进样,测定峰面积。结果,甘草苷、柚皮苷、橙皮苷的RSD分别为0.95%、1.36%、1.07%(n均为5),表明供试品溶液在8 h内稳定。

2.2.9 重复性试验 取同一批样品适量,共6份,分别按

“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按上述色谱条件分别进样,测定峰面积。结果,样品中甘草苷的平均含量为0.30 mg/g, RSD=0.93%(n=6);柚皮苷的平均含量为2.20 mg/g, RSD=0.33%(n=6);橙皮苷的平均含量为2.28 mg/g, RSD=1.55%(n=6),表明本方法重复性良好。

2.2.10 加样回收率试验 精密称取同一批样品9份各0.50 g(含甘草苷0.30 mg/g、柚皮苷2.20 mg/g、橙皮苷2.28 mg/g),分别置25 ml量瓶中,每3份为一组,分别精密加入混合对照品溶液(甘草苷、柚皮苷、橙皮苷的质量浓度分别为0.17、1.20、1.20 mg/ml)1、1.5、2 ml,加甲醇稀释至刻度,称定质量,超声处理30 min,再次称定质量,用甲醇补足减失的质量,滤过,取续滤液,按上述色谱条件进样测定,计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果(n=6)

对照品	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	x,%	RSD,%
甘草苷	0.151 7	0.17	0.318 9	98.35	99.23	1.53
	0.151 4	0.17	0.326 2	102.82		
	0.153 2	0.17	0.320 8	98.58		
	0.155 6	0.25	0.399 8	97.68		
	0.152 3	0.25	0.401 4	99.64		
	0.153 3	0.25	0.398 9	98.24		
	0.153 6	0.34	0.493 5	99.97		
	0.152 7	0.34	0.488 6	98.79		
	0.154 1	0.34	0.490 5	98.94		
	柚皮苷	1.114 1	1.20	2.343 8		
1.106 4	1.20	2.306 5	100.01			
1.130 5	1.20	2.322 1	99.30			
1.120 5	1.80	2.903 5	99.06			
1.168 3	1.80	2.968 7	100.02			
1.125 9	1.80	2.920 6	99.71			
1.143 8	2.40	3.505 4	98.40			
1.133 6	2.40	3.487 2	98.07			
1.129 2	2.40	3.476 8	97.82			
橙皮苷	1.167 6	1.20	2.353 8	98.85	98.73	0.72
1.157 8	1.20	2.351 2	99.45			
1.134 9	1.20	2.321 6	98.89			
1.148 7	1.80	2.919 6	98.38			
1.133 5	1.80	2.887 8	97.46			
1.150 6	1.80	2.920 3	98.32			
1.145 3	2.40	3.501 2	98.16			
1.126 9	2.40	3.515 4	99.52			
1.132 6	2.40	3.521 8	99.55			

2.2.11 样品含量测定 取3批清肺止咳胶囊内容物各适量,分别按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按上述色谱条件分别进样,测定峰面积,按外标法计算样品中有效成分的含量,结果见表2。

表2 清肺止咳胶囊中有效成分的含量测定结果(n=3)

Tab 2 Determination of active components in Qingfei zhike granules(n=3)

批号	甘草苷,mg/g	RSD,%	柚皮苷,mg/g	RSD,%	橙皮苷,mg/g	RSD,%
130122	0.30	0.65	2.20	0.34	2.28	0.29
130208	0.30	0.43	2.25	0.47	2.15	0.58
130129	0.31	0.31	2.19	0.78	2.31	0.36

3 讨论

3.1 检测波长的选择

用紫外分光光度计对混合对照品溶液在190~400 nm波

琥珀挥发油成分的GC-MS分析

程松*, 潘英妮, 孙琦, 刘晓秋[#](沈阳药科大学中药学院, 沈阳 110016)

中图分类号 R284.1;R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)27-2556-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.27.20

摘要 目的:研究琥珀挥发油的化学成分。方法:采用水蒸气蒸馏法提取琥珀挥发油,用气相色谱-质谱联用技术进行分离测定,结合质谱数据库对分离的化合物进行结构鉴定,应用气相色谱峰面积归一化法确定各成分的质量分数。结果:共鉴定出琥珀挥发油中49个化合物,占总峰面积的91.38%,主要成分有(-)-斯巴醇(16.635%)、氧化石竹烯(12.927%)、 α -咕巴烯(7.858%)、马兜铃铃环氧化物(5.819%)、 β -榄香烯(5.710%)、*l*-石柱烯(4.203%)、氧化蛇麻烯II(3.792%)等。结论:该试验首次分析了琥珀挥发油的化学成分,可为琥珀的进一步评价及开发利用提供科学依据。

关键词 琥珀;挥发油;气相色谱-质谱联用技术;成分分析

Analysis of Volatile Oil from Succinum by GC-MS

CHENG Song, PAN Ying-ni, SUN Qi, LIU Xiao-qiu (School of TCM, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To analyze the chemical components of the volatile oil from Succinum. METHODS: The volatile oil was extracted from Succinum by water-steam distillation and analyzed by GC-MS. The structures of the compounds were identified on the basis of mass spectrum database. The components were quantitatively determined with normalization method. RESULTS: A total of 49 compounds had been identified, accounting for 91.38% of the total volatile oil. The main components of volatile oil included (-)-spathulenol (16.635%), caryophyllene oxide (12.927%), α -copaene (7.858%), aristolene epoxide (5.819%), β -elemene (5.710%), *l*-caryophyllene (4.203%), humulene epoxide II (3.792%), etc. CONCLUSIONS: Chemical components are determined in volatile oil from Succinum for the first time, and it provides scientific basis for further evaluation and exploitation.

KEYWORDS Succinum; Volatile oil; GC-MS; Component analysis

琥珀是古代松科松属植物的树脂埋藏地下年久转化而成的化石,具有定惊安神、活血散瘀、利尿通淋之功效^[1]。琥珀主

含树脂,包括琥珀松香高酸、琥珀银松酸、琥珀脂醇、琥珀松香醇、琥珀松香酸及琥珀酸等^[2-3]。2010年版《中国药典》(一部)

长范围内进行扫描,发现甘草苷在279 nm、柚皮苷和橙皮苷在280 nm波长处有最大吸收。通过比较全光谱扫描图,3种对照品在280 nm波长处均有紫外吸收且分离效果好,峰形也好,故采用280 nm为本研究检测波长。

3.2 提取溶剂的选择

对样品分别采用乙醇溶液、50%甲醇溶液、甲醇为溶剂进行提取,发现甘草苷、柚皮苷对3种溶剂无选择性,而橙皮苷以甲醇为溶剂时提取率最高,故选择甲醇作为本研究提取溶剂。

3.3 流动相的选择

对流动相为乙腈-0.3%磷酸溶液(15:85, V/V)与甲醇-0.3%磷酸溶液(27:73, V/V)进行比较,发现两种流动相测定的理论板数及拖尾因子均较理想,差别不大,但因乙腈毒性较大、成本较高,从降低毒性和成本考虑,最终确定以甲醇-0.3%磷酸溶液(27:73, V/V)为本研究流动相。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年版. 北京:中国医药科技出版社, 2010: 69-70、80-81、

176-177、318、1 222-1 223、附录34.

- [2] 刘翔, 黄京. HPLC法同时测定麻仁丸中芍药苷、柚皮苷及橙皮苷的含量[J]. 中国药品标准, 2010, 11(6): 442.
- [3] 陈永刚, 林励, 魏燕华, 等. 超声波提取法与索氏提取法提取化橘红柚皮苷的比较研究[J]. 中药新药与临床药理, 2008, 19(4): 309.
- [4] 王福霞, 彭柳, 康红英. HPLC法测定开胸顺气丸中橙皮苷的含量[J]. 中国药房, 2008, 19(18): 1 413.
- [5] 孙全明, 柯红梅, 熊贤锋. HPLC法同时测定开胸顺气丸中4种成分的含量[J]. 中国药品标准, 2010, 11(2): 131.
- [6] 成英, 宋九华. HPLC测定逍遥丸中甘草苷、异甘草素和甘草酸的含量[J]. 中国现代应用药学, 2012, 29(2): 163.
- [7] 邓秋丽, 徐文升, 李胜. RP-HPLC法测定祛瘀散结胶囊中柚皮苷的含量[J]. 中国医药指南, 2010, 8(30): 13.
- [8] 王显著, 王卫峰. HPLC法测定接骨续筋片中柚皮苷的含量[J]. 现代中医药, 2008, 28(2): 40.
- [9] 张赞华, 董媛, 李忠琼, 等. HPLC-DAD法同时测定气滞胃痛颗粒中5个成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(9): 1 661.

(收稿日期:2013-08-26 修回日期:2013-11-22)

* 硕士研究生。研究方向:中药质量控制。E-mail: loosecs@163.com

[#] 通信作者:教授,博士。研究方向:中药药效物质基础及中药新药的研发。电话:024-23986469。E-mail: liuxiaoqi3388@163.com