

复方鱼腥草口服液质控项目的研究

杨伟峰 滕彦¹ (杭州 310004 浙江省药品检验所; ¹ 杭州 310009 浙江大学附属第二医院)

摘要 目的:建立复方鱼腥草口服液质量控制项目。方法:用聚酰胺薄层色谱法对口服液中的主要成分之一绿原酸进行定性鉴别;用 RP-HPLC 法对黄芩苷进行含量测定,采用 ODS 柱,流动相为甲醇-0.2%磷酸水溶液(52:48)。结果:线性范围 0.1624~1.624 μ g,平均回收率为 101.6%,RSD=1.2%。结论:上述方法简便、重复性好。可用于本品的质量控制。

关键词 绿原酸;黄芩苷;HPLC;聚酰胺薄层色谱法

Quality control of composite Yuxingcao oral liquid

Yang Weifeng(yang WF),Teng Yan(Teng Y) (Zhejiang Institute for Drug Control, Hangzhou 310004)

ABSTRACT **OBJECTIVE:**To establish a quality control method for composite Yuxingcao oral liquid. **METHOD:**The main ingredient chlorogenic was identified by polyacrylamide thin layer chromatography and the baicalin was determined by

RP-HPLC with a ODS column. The mobile phase was methanol-0.2% phosphoric acid water solution(52:48). **RESULTS:** The method was linear within the range from 16 to 162 $\mu\text{g/ml}$, the average recovery was 101.6% (RSD 1.2%). **CONCLUSION:** Both methods were simple and reliable with good repeatability. It may be used for the quality control of this oral liquid.

KEY WORDS

复方鱼腥草口服液是由鱼腥草、黄芩、连翘、金银花等多味药材水煎制成的口服制剂,主治上呼吸道感染。原质量标准为浙江省地方标准,无鉴别和含量测定方法,为了有效地控制本品的质量,我们对其质控项目进行了研究。

1 仪器与试剂

仪器:岛津 LC-10AD 液相色谱仪,CR-7A 色谱数据处理机。

聚酰胺薄膜(黄岩生化试剂厂);黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所。批号:0715-9708,供含量测定用)。甲醇为 HPLC 级,其它试剂为分析纯。

2 绿原酸的薄层色谱定性鉴别

取本品 20ml,用稀盐酸调节 pH 值至 2,再用醋酸乙酯提取 2 次,每次 20ml,合并提取液,蒸干,残渣用甲醇 2ml 溶解,作为供试品溶液。另取绿原酸对照品,加甲醇制成每 1ml 中含 0.5mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(中国药典 1995 年版一部附录 VIB),吸取上述两种溶液各 1 μl ,分别点于同一聚酰胺薄膜上,以醋酸乙酯-甲酸-水(8:1:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点(见图 1)。

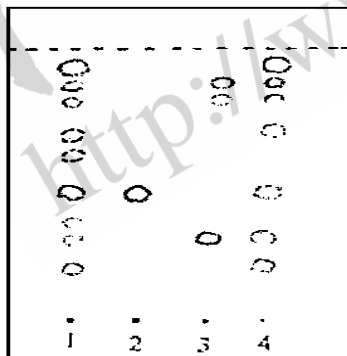


图 1 绿原酸的薄层色谱

1 - 供试品溶液;2 - 绿原酸;3 - 缺鱼腥草、金银花阴性对照溶液;4 - 缺金银花阴性对照溶液

3 黄芩苷含量测定

3.1 色谱条件

色谱柱:Novapak- C_{18} 柱;流动相:甲醇-0.2%磷酸溶

液(52:48)为流动相;流速:1ml/min;检测波长为 277nm。进样量:10 μl 。

3.2 检测波长的选择

取黄芩苷对照品适量,用流动相溶解后作紫外扫描,测得最大吸收波长为 277.4nm,所以检测波长定为 277nm。

3.3 对照品溶液的制备

精密称取在 60 $^{\circ}\text{C}$ 真空干燥 4h 的黄芩苷对照品适量,加甲醇溶解并定量稀释制成每 1ml 中约含 50 μg 的溶液,即得。

3.4 供试品溶液的制备

精密量取本品 1.0ml,置 50ml 量瓶中,加 60%乙醇稀释至刻度,摇匀。用 0.45 μm 滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。

3.5 样品含量测定

取上述供试品溶液和对照品溶液各 10 μl ,注入液相色谱仪,测定峰面积,按外标法计算含量。

3.6 专属性试验

分别吸取供试品溶液、缺黄芩苷阴性对照溶液及黄芩苷对照品溶液各 10 μl ,按上述色谱条件分别进样,结果供试品溶液色谱图在黄芩苷保留时间处有一色谱峰,缺黄芩苷阴性对照溶液在黄芩苷保留时间处无吸收峰(见图 2,3,4)。

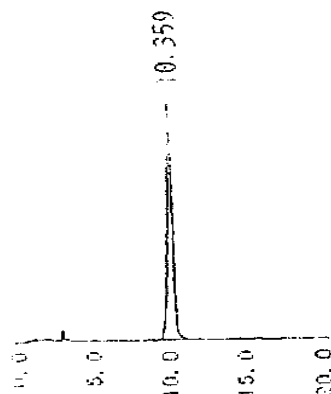


图 2 黄芩苷色谱图

3.7 线性关系考察

取黄芩苷对照品适量,分别制得浓度为 16.24, 24.36, 48.72, 81.20 和 162.4 $\mu\text{g/ml}$ 的对照品溶液,取上

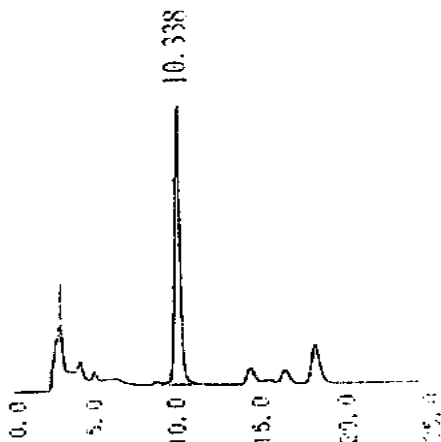


图3 样品色谱图

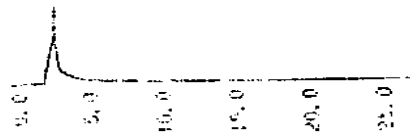


图4 缺黄芩样品色谱图

述对照品溶液各 $10\mu\text{l}$, 进样(两次, 取平均值), 测定峰面积, 以峰面积为纵坐标, 浓度为横坐标进行线性回归, 得回归方程为 $A = 43893 C - 4561$, $r = 0.9998$ 。结果表明, 在 $16.24 \sim 162.4\mu\text{g/ml}$ 浓度范围内呈良好的线性关系。

3.8 精密度试验

取浓度为 $48.72\mu\text{g/ml}$ 的对照品溶液重复进样 $10\mu\text{l}$ ($n = 5$)。测定峰面积, 相对标准偏差(RSD)为 1.4% 。

3.9 重复性试验

按正文的含量测定方法, 对同一批样品(批号: 981112)进行多次测定($n = 5$), 得平均含量为 2.732mg/ml , 相对标准偏差(RSD)为 0.96% 。

3.8 回收率试验

精密吸取本品(批号: 981112) 0.5ml , 再精密加入黄芩苷对照品溶液(0.28mg/ml) 5.0ml , 定容至 50ml , 滤过, 依法测定, 结果见表1。

表1 加样回收率

样品含量 / mg	添加量 / mg	实测量 / mg	回收率 / %	平均回收 率/ %	RSD / %
1.366	1.400	2.789	101.64		
1.366	1.400	2.805	102.78		
1.366	1.400	2.776	100.71	101.6	1.2
1.366	1.400	2.765	99.93		
1.366	1.400	2.805	102.78		

3.9 样品测定

按正文方法对三批样品进行测定, 结果见表2。

表2 三批样品测定结果/ $n = 5$

批号	平均含量/ $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$	RSD/ %
981110	2.62	1.04
981111	2.67	0.94
981112	2.74	1.12

4 讨论

4.1 绿原酸为金银花的主要成分, 由于金银花在处方中所占比例较少, 用硅胶 G 板薄层色谱法, 斑点不明显, 后改用聚酰胺薄膜检出灵敏度得到很大提高, 提取条件经试验证明, 以酸化后用醋酸乙酯提取效果为佳, 展开剂文献报道多以醋酸为展开剂, 但由于本品中同类成分较多, 相互间干扰严重, 经反复筛选, 采用醋酸乙酯-甲酸-水(8:1:1)可获得满意结果。此展开剂用于绿原酸的聚酰胺薄层色谱鉴定未见文献报道, 另取金银花样品作对照, 结果在与绿原酸斑点相应位置有一很浅的荧光斑点, 据查文献^[1]鱼腥草中含极少量绿原酸, 这与实验结果一致。在其他几味药材的 TLC 结果不满意的情况下, 本法可以从斑点荧光强度来有效地控制成品质量。

4.2 黄芩苷含量测定所用流动相文献报导主要有甲醇-水-磷酸系统及甲醇-水-冰醋酸系统。经比较以甲醇-水-磷酸系统为佳。流动相中磷酸比例文献采用甲醇-水-磷酸(47:53:0.2), 其水相磷酸浓度约为 0.4% , 我们对磷酸浓度进行了考察, 发现用 0.4% 和 0.2% 磷酸溶液作水相, 均能获得很好分离。以黄芩苷峰计算磷酸浓度改变后其理论塔板数未发生变化, 实验所得理论塔板数约为 4000。从保护仪器和色谱柱的角度出发, 其水相磷酸浓度定为 0.2% 。

参考文献

- 吕武清, 龙新华主编. 中成药中的药材薄层色谱鉴别. 北京: 人民卫生出版社, 1998: 275.
- 张新建, 金芳. 胎前饮中黄芩苷的 HPLC 法测定. 时珍国药研究, 1997, 8(2): 139.
- 刘华钢, 黄海滨, 等. HPLC 法测定柴黄片中黄芩苷的含量. 中国中药杂志, 1997, 22(11): 674.

收稿日期: 1999-12-23