

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.07.033

岩果止咳液质量标准改进

吕情花

(湖南省娄底市食品药品检验检测所, 湖南 娄底 417000)

摘要:目的 改进岩果止咳液的质量标准。方法 采用薄层色谱(TLC)法对果上叶进行定性鉴别;采用高效液相色谱-紫外检测(HPLC-UV)法同时测定石吊兰、甘草流浸膏中石吊兰素、甘草酸铵的含量。结果 TLC斑点清晰,专属性强;石吊兰素、甘草酸铵质量浓度分别在0.004 866~0.243 3 mg/mL ($r=0.999\ 9$)和0.022 8~1.140 mg/mL ($r=0.999\ 7$)范围内与峰面积线性关系良好,平均加样回收率分别为98.46%和98.91%,RSD分别为2.25%和0.98% ($n=9$)。结论 该方法灵敏、准确,可完善岩果止咳液的质量标准。

关键词:岩果止咳液;果上叶;石吊兰素;甘草酸铵;高效液相色谱-紫外色谱

中图分类号:R932;R286.0

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2020)07-0116-03

Quality Standard Improvement of Yanguo Zhike Liquid

LYU Qinghua

(Loudi Food and Drug Inspection and Testing Institute, Loudi, Hunan, China 417000)

Abstract: Objective To improve the quality standard of Yanguo Zhike Liquid. **Methods** Thin layer chromatography(TLC) method was used to identify the denseflower bulbophyllum herb. High performance liquid chromatography-ultraviolet detection(HPLC-UV) method was used to simultaneously determine the content of lysionotin in Lysionotus Pauciflorus and ammonium glycyrrhizinate in Extractum Glycyrrhizae Liquidum. **Results** TLC spots were clear with strong specificity. The mass concentrations of lysionotin and ammonium glycyrrhizinate were linearly related to the peak area within the ranged of 0.004 866-0.243 3 mg / mL ($r=0.999\ 9$) and 0.022 8-1.140 mg/mL ($r=0.999\ 7$), and the average sample recoveries were 98.46% and 98.91%, RSDs were 2.25% and 0.98% respectively ($n=9$). **Conclusion** This method is sensitive and accurate, which can improve the quality standard of Yanguo Zhike Liquid.

Key words: Yanguo Zhike Liquid; denseflower bulbophyllum herb; lysionotin; ammonium glycyrrhizinate; high performance liquid chromatography-ultraviolet detection

岩果止咳液是由石吊兰、果上叶、甘草流浸膏制成的纯中药制剂,具有清热化痰、止咳润肺的功效,用于治疗急、慢性支气管炎,咳嗽痰多的呼吸道疾病。现行质量标准收载于《卫生部药品标准·中药成方制剂(第十九册)》(WS3-B-3610-98),但只有1个化学鉴别、石吊兰的薄层色谱(TLC)鉴别和制剂通则常规检查项。本试

验中增加了具有润肺止咳、解毒消肿功效的果上叶的TLC鉴别法^[1-2],以有抗菌抗炎、化痰止咳等作用的石吊兰中石吊兰素^[3-4]及有抗炎抗过敏等作用的甘草中甘草酸铵^[5-6]作为指标成分进行定量测定,用高效液相色谱-紫外检测(HPLC-UV)法同时测定二者含量,旨在更好地控制岩果止咳液的质量,完善其质量标准。现

第一作者:吕情花,女,大学本科,副主任药师,研究方向为药品检验及中药制剂质量标准,(电子信箱)374556425@qq.com。

- [3] 孙立军,陈占清. 金莲花颗粒治疗上呼吸道感染 100 例临床观察[J]. 河北医学,2010,16(11):1401-1402.
- [4] 卓少华,郑俊德,丘远聪,等. 金莲花颗粒与炎宁颗粒治疗小儿急性化脓性扁桃体炎的效果对比[J]. 当代医药论丛,2018,16(5):163-164.
- [5] 曾宪锋,范铁锤,李丽,等. 灯盏生脉胶囊加金莲花颗粒与氯雷他定对风燥性咽炎的疗效比较[J]. 武警医学,2014,25(3):292-293.
- [6] 李燕青. 金莲花颗粒和利巴韦林注射液治疗儿童流行性腮腺炎的效果探讨[J]. 当代医药论丛,2017,15(15):161-162.
- [7] 张鹏. 中药质量控制相关创新技术研究[D]. 北京:北京中医药大学,2017.
- [8] 王志军. 中药指纹图谱建立方法的研究及化学计量学的应用[D]. 上海:同济大学,2007.
- [9] 李艳荣,杜义龙,潘海峰. 金莲花药材高效液相色谱指纹图

- 谱及两种黄酮类成分含量测定[J]. 医药导报,2012,31(11):1500-1505.
- [10] 谭安菊,周雯,陈惠,等. 金莲花药材高效液相色谱指纹图谱研究[J]. 贵阳医学院学报,2013,38(5):489-492.
- [11] 李勇军,蒋礼,何燕玲,等. 金莲花胶囊高效液相色谱指纹图谱研究[J]. 中国药业,2018,27(2):23-24.
- [12] 叶云峰,彭勇,付岗,等. 药用金莲花研究新进展[J]. 中国现代中药,2007(3):29-30.
- [13] 郭向晖. 金莲花及其胶囊中黄酮类成分的液质联用分析[D]. 河北:河北医科大学,2011.
- [14] 白云娥,漆小梅,高运玲. 金莲花总黄酮成分的含量测定[J]. 山西医科大学学报,2000,31(6):502-504.
- [15] 吴利霞,黄金祥,崔同. 金莲花植物及其药剂的研究进展[J]. 河北林果研究,2004,12(4):392-395.

(收稿日期:2019-08-03;修回日期:2020-02-27)

报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

CAMAG III 型薄层扫描仪(瑞士 Canag 公司,配置半自动点样);Waters e2695 型高效液相色谱仪(配置2998 二极管阵列紫外检测器、控温箱、自动进样器、Empower 色谱工作站,美国 Waters 公司);AUW220D 型电子天平(日本岛津公司,精度为十万分之一);KQ5200 型超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试药

果上叶对照药材(批号为 110726-201014),石吊兰素对照品(批号为 111555-200602,含量 98.1%),甘草酸铵对照品(批号为 110731-201720,含量 97.7%),均购自中国食品药品检定研究院;岩果止咳液(贵州光正制药有限公司,批号分别为 HAE0928, HAE1020, HAE1228);硅胶 G 板(青岛胜海精细硅胶化工有限公司);甲醇为色谱纯(德国 Merck 公司);I 级纯化水(自制);其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

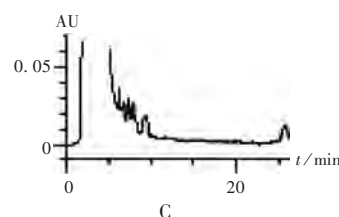
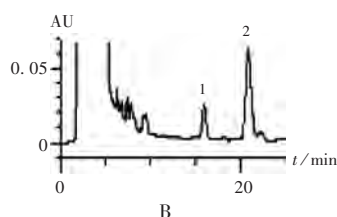
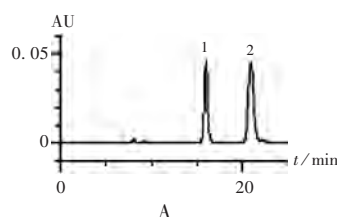
2.1 果上叶 TLC 鉴别^[7-8]

取本品 10 mL,用三氯甲烷振摇提取 2 次,每次 20 mL,合并三氯甲烷液,回收溶剂至干,残渣加无水乙醇 2 mL 使溶解,即得供试品溶液。取果上叶对照药材 3 g,加乙醇 50 mL,加热回流 1 h,滤过,滤液回收溶剂至干,残渣加无水乙醇 2 mL 使溶解,即得对照药材溶液。取缺果上叶的阴性对照样品 10 mL,同法制成阴性对照品溶液。照 2015 年版《中国药典》(通则 0502)TLC 法试验,吸取上述 3 种溶液各 10 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以甲苯-甲醇(1:1, V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 三氯化铁乙醇溶液,烘干,在日光下检视。供试品溶液色谱中,在与对照药材色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰,详见图 1。

2.2 石吊兰素、甘草酸铵含量测定^[9-14]

2.2.1 色谱条件

色谱柱:Gemini C₁₈ 110A 柱(250mm $\times$ 4.6mm,5 μ m);流动相:甲醇-0.05%磷酸溶液(68:32, V/V);柱温:30 $^{\circ}$ C;流速:1.0 mL/min;进样量:10 μ L;检测波长:250 nm。



1. 石吊兰素 2. 甘草酸铵

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图2 高效液相色谱图



1. 阴性对照品溶液 2. 对照品溶液 3-5. 供试品溶液

图1 果上叶薄层色谱图

2.2.2 溶液制备

取石吊兰素、甘草酸铵对照品适量,精密称定,置同一 10 mL 容量瓶中,加 80% 甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得 0.243 3, 1.140 mg/mL 混合对照品贮备液。精密量取本品 2 mL,置 25 mL 容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。按处方及制备工艺分别制备缺石吊兰(石吊兰素)和甘草流浸膏(甘草酸铵)的阴性样品,按供试品溶液制备方法制得阴性对照品溶液。

2.2.3 方法学考察

专属性考察:在拟订色谱条件下,分别进样混合对照品溶液、供试品溶液及阴性对照品溶液,测定。结果石吊兰素、甘草酸铵的保留时间与对照品一致,各色谱峰与相邻峰的分度均大于 1.5,阴性对照品溶液在相应保留时间处无相应峰,阴性对照无干扰。详见图 2。

线性关系考察:精密量取混合对照品贮备液(溶液 I) 10 mL,用甲醇稀释至 100 mL(溶液 II)。在拟订色谱条件下分别取溶液 I 和 II 各 2, 5, 10 μ L 进样。以质量浓度(X, mg/mL)为横坐标、峰面积值(Y)为纵坐标进行线性回归,得石吊兰素和甘草酸铵回归方程分别为 $Y_{石} = 2.76 \times 10^3 X - 5.60 \times 10^4$ ($r = 0.9999$, $n = 6$), $Y_{甘} = 3.49 \times 10^2 X - 1.02 \times 10^4$ ($r = 0.9999$, $n = 6$)。结果表明,石吊兰素和甘草酸铵的质量浓度分别在 0.004 866 ~ 0.243 3 mg/mL 和 0.022 8 ~ 1.140 mg/mL 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:取同一混合对照品溶液,按拟订色谱条件连续进样 6 次。结果石吊兰素、甘草酸铵的峰面积的 RSD 分别为 1.02% 和 0.87% ($n = 6$),表明仪器精

密度良好。

稳定性试验:取同一供试品溶液,在拟订色谱条件下分别于0,2,6,12,18,24 h时进样10 μ L。结果石吊兰素、甘草酸铵峰面积的RSD分别为1.22%和1.34% ($n=6$),表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

重复性试验:取同一批(批号为HAE1228)样品,依法平行制备供试品溶液6份,按拟订色谱条件进样测定。结果石吊兰素、甘草酸铵的平均含量分别为0.242, 2.022 mg/mL, RSD分别为1.43%和1.36% ($n=6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:精密量取已知含量的同一批(批号为HAE1228)样品9份,每份1.00 mL,置25 mL容量瓶中,分别加入石吊兰素、甘草酸铵(130.92, 1088.34 μ g/mL)混合对照品溶液1.1, 1.9, 2.6 mL,依法制备供试品溶液,使三者含量均约为已知样品的60%, 100%, 140%,每个浓度平行3份,精密吸取10 μ L,进样测定,计算回收率。结果见表1。

表1 加样回收试验结果($n=9$)

样品含量(mg)		加入量(mg)		测得量(mg)		回收率(%)		$\bar{X}$ (%)		RSD(%)	
A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
0.242	2.022	0.144	1.197	0.385	3.231	99.31	101.00				
0.242	2.022	0.144	1.197	0.387	3.210	100.69	99.25				
0.242	2.022	0.144	1.197	0.380	3.202	95.83	98.58				
0.242	2.022	0.249	2.068	0.486	4.043	97.99	97.73				
0.242	2.022	0.249	2.068	0.498	4.052	102.81	98.16	98.46	98.91	2.25	0.98
0.242	2.022	0.249	2.068	0.484	4.061	97.19	98.60				
0.242	2.022	0.340	2.830	0.578	4.841	98.82	99.61				
0.242	2.022	0.340	2.830	0.570	4.822	96.47	98.94				
0.242	2.022	0.340	2.830	0.572	4.804	97.06	98.30				

注:A为石吊兰素,B为甘草酸铵。

2.2.4 样品含量测定

取3个批号的样品,依法制备供试品溶液方法制备,每批平行3份,计算含量。结果见表2。

表2 样品含量测定(mg/mL, $n=3$)

批号	石吊兰素	甘草酸铵
AE0928H	0.221	2.034
HAE1020	0.235	1.986
HAE1228	0.240	2.027

3 讨论

展开剂选择:果上叶的TLC鉴别过程中,参考文献[3-4],以三氯甲烷、乙酸乙酯提取,以三氯甲烷-甲醇-水(7:2:1, V/V/V)上层溶液、三氯甲烷-甲醇(2:1, V/V)、甲苯-甲醇(1:1, V/V)为展开剂,发现以三氯甲烷提取,甲苯-甲醇(1:1, V/V)分离度好,可有效降低边缘效应。同时,比较氨蒸气熏、喷以5%三氯化铁乙

醇溶液、喷以1%铁氰化钾-1%三氯化铁溶液(1:1, V/V)混合溶液3种显色方式,发现5%三氯化铁乙醇溶液斑点显色清晰,效果好。

流动相选择:在HPLC分析过程中,参考文献[9-14]分别以甲醇-1%冰醋酸(68:32, V/V)、甲醇-1%冰醋酸-0.2 mol/L醋酸铵溶液(67:1:32, V/V/V)、甲醇-0.05%磷酸(68:32, V/V)为流动相进行洗脱,发现以甲醇-0.05%磷酸(68:32, V/V)进行洗脱时,基线平稳,目标峰峰形良好,分离效果佳。

检测波长选择:将2种对照品溶液进行紫外扫描,发现石吊兰素、甘草酸铵最大吸收波长为334 nm和250 nm。相同条件下,在250 nm波长处2种成分的吸收都很明显,且阴性对照品溶液无杂峰干扰。综合考虑灵敏度和专属性,确定最佳检测波长为250 nm。

岩果止咳液是传统药,疗效可靠,使用广泛。目前质量标准仅有TLC鉴别,故建立HPLC法对其活性成分进行多组分定量测定,可更好地控制该制剂的质量。该方法准确度高、重复性好,可作为该制剂的质量控制方法。

参考文献:

- [1] 马四补,隋艳华,王绍辉,等. 苗药果上叶镇咳、抗炎作用有效部位筛选[J]. 贵阳中医学院学报,2016,1(4):1-5.
- [2] 李宗汉,唐心遂,王绍辉,等. 复方果上叶止咳糖浆治疗急、慢支气管炎疗效观察[J]. 成空药学,1992,2(2):24-25.
- [3] 韩国柱,苏成业,张毅,等. 石吊兰素在大鼠体内的吸收、分布与消除[J]. 中国药理学杂志,1985,5(4):50-51.
- [4] 王绍云,邹勇,曹晖,等. 石吊兰素的研究进展[J]. 凯里学院学报,2008,6(4):47-49.
- [5] 侯长奎. 甘草酸铵在呼吸系统疾病中的临床应用进展[J]. 医学综述,2009,2(4):274-276.
- [6] 黄能慧,李诚秀,罗俊,等. 甘草酸铵的抗炎作用[J]. 贵阳医学院学报,1995,1(4):26-28.
- [7] 马四补,张应蓉,屈相玲,等. 民族药果上叶中 β -谷甾醇的含量测定[J]. 农业科学与技术,2015,11(8):2546-2548.
- [8] 孙莲,严雷,孟磊,等. 芫菁子中 β -谷甾醇的TLC鉴别及含量测定[J]. 华西药理学杂志,2013,3(7):295-297.
- [9] 盛卫国,熊阳,徐莲英,等. 高效液相色谱法测定石吊兰中石吊兰素的含量[J]. 中成药,2009,31(2):321-322.
- [10] 王绍云,曹晖,唐文华,等. RP-HPLC法测定罗勒中石吊兰素含量[J]. 光谱实验室,2010,27(2):780-784.
- [11] 李墨,赵辉. HPLC法测定芍药甘草汤中甘草酸铵的含量[J]. 中国当代医药,2017,15(4):101-103.
- [12] 刘莉,周世玉,丁叶,等. 龙胆泻肝胶囊中甘草苷、甘草酸铵的含量测定[J]. 内江科技,2017,7(3):29-30.
- [13] 邵留英,瞿发林,倪玉佳,等. 复方芍药颗粒质量标准研究[J]. 中国药业,2018,27(17):27-30.
- [14] 李桂本,李振国,宋汉敏,等. 溃疡散胶囊质量标准提高研究[J]. 中国药业,2015,24(1):47-49.

(收稿日期:2019-06-25;修回日期:2019-11-25)