

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.06.009

# 复方连翘滴鼻液制备工艺优化及质量控制

金伟华<sup>1</sup>, 于波涛<sup>1</sup>, 张明<sup>1</sup>, 蒲志强<sup>1</sup>, 龚婵<sup>2</sup>

(1. 中国人民解放军西部战区总医院药剂科, 四川 成都 610083; 2. 川北医学院药学部, 四川 南充 637000)  
**摘要:**目的 研究复方连翘滴鼻液的提取工艺和质量标准。方法 采用正交试验优选提取工艺。采用薄层色谱(TLC)法定性鉴别样品中连翘和知母。采用高效液相色谱法测定连翘苷的含量, 色谱柱为 YMC-Triart C<sub>18</sub> 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水(23:77, V/V), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 277 nm, 柱温为 30 ℃, 进样量为 10 μL。结果 最佳提取工艺为加 10 倍水, 煎煮 3 次, 每次 1 h, 最佳醇沉体积分数为 60%。连翘苷进样质量浓度在 0.036 6~0.183 0 mg/mL 范围内与峰面积线性关系良好, 精密度、稳定性、重复性试验的 RSD 均小于 2.1%, 平均加样回收率为 101.48%, RSD 为 1.55% (n=9)。结论 优选的提取工艺科学合理, 质量标准有效可控, 可用于该制剂的质量控制。

**关键词:** 复方连翘滴鼻液; 提取工艺; 连翘苷; 质量标准

中图分类号: R932; R283; TQ460.6

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2021)06-0032-04

## Optimization of Preparation Technology and Quality Control of Compound Lianqiao Nasal Drops

JIN Weihua<sup>1</sup>, YU Botao<sup>1</sup>, ZHANG Ming<sup>1</sup>, PU Zhiqiang<sup>1</sup>, GONG Chan<sup>2</sup>

(1. Department of Pharmacy, The General Hospital of Western Theater Command of PLA, Chengdu, Sichuan, China 610083; 2. Department of Pharmacy, North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan, China 637000)

**Abstract: Objective** To study the extraction process and quality standard of Compound Lianqiao Nasal Drops. **Methods** Orthogonal test was used to optimize the extraction process. Thin-layer chromatography(TLC) was used for the qualitative identification of *Forsythia suspensa* and *Anemarrhena asphodeloides* in the samples, and High-performance liquid chromatography(HPLC) was used for the content determination of forsythoside, the chromatographic column was YMC-Triart C<sub>18</sub> column(250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile-water(23:77, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 277 nm, the column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 10 μL. **Results** The optimal extraction process was as follows: the water addition was 10 times, decocted for 3 times, 1 h each time, the optimal alcohol precipitation volume fraction was 60%. The linear range of forsythoside was 0.036 6~0.183 0 mg/mL. The RSDs of precision, stability and repeatability tests were less than 2.1%. The average recovery of forsythoside was 101.48% with RSD of 1.55% (n=9). **Conclusion** The optimized extraction process is scientific and reasonable, and the quality standard is effective and controllable, which can be used for the quality control of the preparation.

**Key words:** Compound Lianqiao Nasal Drops; extraction technology; forsythoside; quality standard

连翘为木犀科植物连翘的干燥果实, 具有清热解毒、消肿散结、疏散风热功效<sup>[1]</sup>。药理学研究表明, 连翘具有抗氧化、抗菌、抗炎、抗病毒、抗肿瘤、解热镇痛等作用<sup>[2]</sup>。连翘苷是连翘的主要药理活性成分之一<sup>[3]</sup>。以连翘为原料药, 目前已开发出许多成方制剂, 包括中成药鼻用制剂, 如复方连翘滴鼻液, 其主要由连翘、板蓝根、芦根、郁金、地黄、知母、广藿香等药材提取制成, 通过鼻黏膜吸收, 用于防治病毒性感冒、病毒性肝炎、扁桃体炎等。本研究中探讨了其提取工艺及质量控制, 现报道如下。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

1200 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司)、AB135-S 型电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司, 精度为 0.01 mg); PHS-3C 型精密 pH 计(上海康仪仪器有限公司); AP-01P 型真空泵(天津奥特赛恩斯仪器

有限公司); GT-2013QTS 超声波清洗机(广东固特超声股份有限公司)。

### 1.2 试剂

复方连翘滴鼻液(批号分别为 20190406, 20190410, 20190411, 20190412)及各阴性样品均由中国人民解放军西部战区总医院制剂中心提供; 连翘苷对照品(批号 PCS0588-180105, 含量为 98%), 莼葵皂苷元对照品(批号 PCS1009-170905, 含量为 98%), 均购自成都植标化纯生物技术有限公司; 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

### 2.1 样品提取

水提工艺筛选: 采用 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交试验法, 以加水量(A)、煎煮时间(B)、煎煮次数(C)为考察因素, 因素水平见表 1。以连翘苷含量为考察指标, 通过正交试验确定

第一作者: 金伟华, 女, 大学本科, 副主任药师, 研究方向为医院药学, (电子信箱) jwh311@sina.com。

通信作者: 于波涛, 男, 博士研究生, 主任药师, 研究方向为医院药学、药剂学, (电子信箱) yu-bo-tao@sohu.com。

最佳的水提工艺条件。正交试验设计与结果见表 2<sup>[4]</sup>, 方差分析结果见表 3。由表 2 可知, 3 个因素对提取工艺的影响强弱依次为  $C > A > B$ ; 方差分析结果表明, 因素 C 对水提工艺结果有显著影响。试验结果表明, 最佳的水提工艺为  $A_3B_2C_3$ 。结合实际情况, 现拟订工艺为加 10 倍水, 煎煮 3 次, 每次 1 h<sup>[5]</sup>。经验证, 该工艺重复性良好, 连翘苷平均含量为 0.392 mg/mL, 说明水提工艺稳定可行。

表 1 因素水平表

Tab. 1 Factors and their levels

| 水平 | 因素 A(倍) | 因素 B(h) | 因素 C(次) |
|----|---------|---------|---------|
| 1  | 8       | 0.5     | 1       |
| 2  | 10      | 1.0     | 2       |
| 3  | 12      | 1.5     | 3       |

表 2  $L_9(3^4)$  正交试验设计与结果

Tab. 2 Design and results of the  $L_9(3^4)$  orthogonal test

| 序号    | A      | B      | C       | D(空白)  | 连翘苷峰面积  | 连翘苷含量( $\mu\text{g/mL}$ ) |
|-------|--------|--------|---------|--------|---------|---------------------------|
| 1     | 1      | 1      | 1       | 1      | 1122.20 | 130.4                     |
| 2     | 1      | 2      | 2       | 2      | 2091.80 | 243.2                     |
| 3     | 1      | 3      | 3       | 3      | 2712.21 | 316.0                     |
| 4     | 2      | 1      | 2       | 3      | 2280.50 | 265.6                     |
| 5     | 2      | 2      | 3       | 1      | 3420.90 | 397.6                     |
| 6     | 2      | 3      | 1       | 2      | 851.50  | 99.2                      |
| 7     | 3      | 1      | 3       | 2      | 3203.50 | 372.8                     |
| 8     | 3      | 2      | 1       | 3      | 1653.14 | 192.4                     |
| 9     | 3      | 3      | 2       | 1      | 2775.10 | 322.4                     |
| $K_1$ | 689.60 | 768.80 | 422.00  | 850.40 |         |                           |
| $K_2$ | 762.40 | 833.20 | 831.20  | 715.20 |         |                           |
| $K_3$ | 887.60 | 737.60 | 1086.40 | 774.00 |         |                           |
| R     | 198.00 | 95.60  | 664.40  | 135.20 |         |                           |

表 3 方差分析结果

Tab. 3 Results of the variance analysis

| 方差来源 | 离差平方和      | 自由度 | 均方         | F 值   | P       |
|------|------------|-----|------------|-------|---------|
| A    | 6 686.542  | 2   | 3 343.271  | 2.18  | $>0.05$ |
| B    | 1 584.462  | 2   | 792.231    | 0.52  | $>0.05$ |
| C    | 74 888.782 | 2   | 37 444.391 | 24.44 | $<0.05$ |
| 误差   | 3 063.716  | 2   | 1 531.858  |       |         |

注:  $F_{0.05(2,2)} = 19.00$ ;  $F_{0.01(2,2)} = 99.00$ 。

Note:  $F_{0.05(2,2)} = 19.00$ ,  $F_{0.01(2,2)} = 99.00$ 。

醇沉工艺筛选: 根据优选的最佳水提工艺, 对水提液进行醇沉工艺考察。取上述水提液 5 份, 每份 200 mL, 分别加入乙醇, 使乙醇体积分数依次达到 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 静置 24 h, 滤过, 滤液回收乙醇至无醇味, 测定。结果药液中连翘苷含量分别为 0.342, 0.346, 0.356, 0.334, 0.326 mg/mL。可见, 当乙醇体积分数为 60% 时, 提取后药液中连翘苷含量最高, 因此确定乙醇体积分数为 60%。

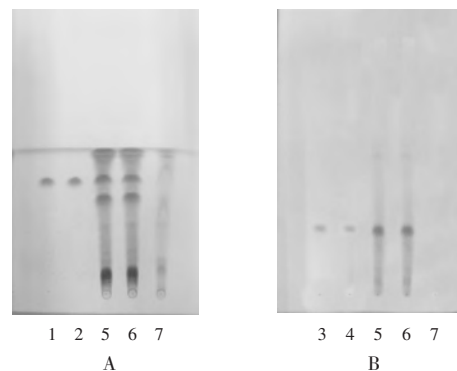
样品制备: 根据水提和醇沉工艺考察结果, 确定复

方连翘滴鼻液的制备工艺为: 按处方分量及比例称取药材, 加 10 倍水, 分别煎煮 3 次, 每次 1 h, 合并 3 次煎煮后的滤液, 浓缩至相对密度为 1.15 ~ 1.25, 加入乙醇, 调乙醇体积分数至 60%, 静置 24 h, 滤过, 回收乙醇, 加水适量, 用 50% NaOH 溶液调 pH 至 6 ~ 7, 再加入 5% 羟苯乙酯醇溶液约 3 mL, 加水定容至 1 000 mL, 搅匀, 分装, 即得。

## 2.2 定性鉴别

连翘: 取样品 20 mL, 用乙酸乙酯提取 2 次, 每次 20 mL, 合并乙酸乙酯提取液, 水浴蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。取连翘苷对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液, 作为对照品溶液。取缺连翘的阴性样品, 按供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。按 2015 年版《中国药典(四部)》通则 0502“薄层色谱法”项下方法吸取上述 3 种溶液各 8  $\mu\text{L}$ , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-甲醇(5:1, V/V)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 105  $^{\circ}\text{C}$  加热至斑点显色清晰。结果供试品溶液色谱中, 在与对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的荧光斑点, 阴性对照无干扰。详见图 1 A。

知母: 取样品 20 mL, 用乙醚振摇提取 2 次, 每次 20 mL, 合并水溶液, 用水饱和正丁醇振摇提取 2 次, 每次 20 mL, 合并正丁醇液, 蒸干, 残渣加乙醇 20 mL 使溶解, 加盐酸 2 mL, 加热回流 1 h, 放冷, 加水 10 mL, 用石油醚(60 ~ 90  $^{\circ}\text{C}$ )振摇提取 2 次, 每次 20 mL, 合并石油醚液, 蒸干, 残渣加乙酸乙酯 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取菝葜皂苷元对照品, 加乙酸乙酯制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液, 作为对照品溶液。取缺知母的阴性样品, 按供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。吸取



A. 连翘 B. 知母

1-2. 连翘苷对照品溶液 3-4. 菝葜皂苷元对照品溶液  
5-6. 供试品溶液 7. 阴性对照品溶液

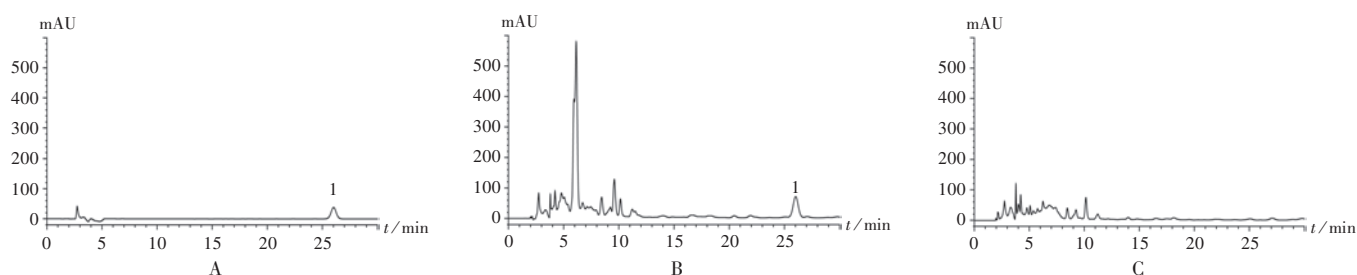
图 1 薄层色谱图

A. *Forsythia suspense* B. *Anemarrhena asphodeloides*

1-2. Forsythsin reference solution 3-4. Smilaxapogenin reference solution

5-6. Test solution 7. Negative reference solution

Fig. 1 TLC chromatograms



1. 连翘苷  
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. forsythin

A. Reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 2 HPLC chromatograms

上述3种溶液各10  $\mu$ L,分别点于同一硅胶G薄层板上,以甲苯-丙酮(9:1, V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以5%香草醛硫酸溶液,在105  $^{\circ}$ C加热至斑点显色清晰。结果供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的荧光斑点,阴性对照无干扰。详见图1B。

### 2.3 连翘苷含量测定

#### 2.3.1 色谱条件

色谱柱:YMC-Triart C<sub>18</sub>柱(250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m);流动相:乙腈-水(23:77, V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:277 nm;柱温:30  $^{\circ}$ C;进样量:10  $\mu$ L。

#### 2.3.2 溶液制备

取连翘苷对照品适量,精密称定,加70%甲醇制成质量浓度为0.1830 mg/mL的对照品溶液。精密量取样品30 mL,加乙酸乙酯振摇提取3次,每次25 mL,合并乙酸乙酯,蒸干,残渣加70%甲醇溶解,置100 mL容量瓶中,加70%甲醇定容,摇匀,即得供试品溶液。取连翘苷的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。

#### 2.3.3 方法学考察<sup>[6-11]</sup>

系统适用性试验:精密吸取2.3.2项下3种溶液各10  $\mu$ L,按2.3.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应位置有吸收峰,阴性对照无干扰。理论板数按连翘苷峰计应不低于3000,分离度均大于1.5,基线分离良好。详见图2。

线性关系考察:取对照品溶液依次稀释,得质量浓度为0.1830, 0.1464, 0.1098, 0.0732, 0.0366 mg/mL的系列对照品溶液,按2.3.1项下色谱条件分别进样,记录峰面积,以连翘苷质量浓度(X)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程  $Y = 7159.9X + 56.341$ ,  $r = 0.9992$  ( $n = 5$ )。结果,连翘苷进样质量浓度在0.0366~0.1830 mg/mL范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:精密吸取同一对照品溶液适量,按2.3.1项下色谱条件连续进样6次,记录连翘苷峰面积。

结果的RSD为1.05% ( $n = 6$ ),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取样品(批号20190406),依法制备供试品溶液,室温下分别于0, 2, 4, 8, 12, 24 h时进样,测定峰面积。结果的RSD为2.07% ( $n = 6$ ),表明供试品溶液室温放置24 h内稳定。

重复性试验:取同一批(批号20190406)样品,按2.3.2项下方法制备供试品溶液6份,按2.3.1项下色谱条件连续进样测定。结果连翘苷平均含量为0.314 mg/mL, RSD为1.53% ( $n = 6$ ),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取连翘苷含量为0.314 mg/mL的供试品溶液适量,分别加入不同质量浓度的连翘苷对照品溶液,按2.3.2项下方法制备供试品溶液,按2.3.1项下色谱条件进样测定,计算回收率。结果见表4。

表4 加样回收试验结果( $n = 9$ )

Tab. 4 Results of recovery tests ( $n = 9$ )

| 样品含量( $\mu$ g) | 加入量( $\mu$ g) | 测得量( $\mu$ g) | 回收率(%) | $\bar{X}$ (%) | RSD(%) |
|----------------|---------------|---------------|--------|---------------|--------|
| 157            | 146           | 309.5         | 104.45 |               |        |
| 157            | 146           | 304.6         | 101.10 |               |        |
| 157            | 146           | 306.0         | 102.05 |               |        |
| 157            | 97            | 255.5         | 101.55 |               |        |
| 157            | 97            | 253.7         | 99.69  | 101.48        | 1.55   |
| 157            | 97            | 256.1         | 102.16 |               |        |
| 157            | 48            | 206.0         | 102.08 |               |        |
| 157            | 48            | 204.5         | 98.96  |               |        |
| 157            | 48            | 205.6         | 101.25 |               |        |

#### 2.3.4 样品含量测定

取3批(批号分别为20190410, 20190411, 20190412)样品适量,按2.3.2项下方法制备供试品溶液,再按2.3.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算样品含量。结果3批样品中连翘苷的含量分别为0.338, 0.346, 0.342 mg/mL。

### 3 讨论

#### 3.1 提取工艺优选

该制剂处方提取工艺主要采用水提醇沉法,以连翘