

中图分类号: R927.2 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)02-0080-03  
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.02.019



## $^{60}\text{Co} - \gamma$ 射线辐照对利咽含漱液中木犀草苷含量的影响\*

施崇精, 李萍<sup>△</sup>, 王隽, 蒲秋易, 李瑞, 肖佳佳

(四川省成都市中西医结合医院, 四川 成都 610095)

**摘要:**目的 探讨 $^{60}\text{Co} - \gamma$ 射线辐照对利咽含漱液中木犀草苷含量的影响。方法 采用高效液相色谱法, 色谱柱为Agilent Zorbax Eclipse XDB-C<sub>18</sub>柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液(20:80, V/V), 流速为1.0 mL/min, 检测波长为350 nm, 柱温为30 °C, 进样量为10 μL。分别以6, 10 kGy  $^{60}\text{Co} - \gamma$ 射线对照品进行辐照, 测定其中木犀草苷的含量。结果 木犀草苷质量浓度在1.895 4~47.385 8 μg/mL范围内与峰面积线性关系良好( $r = 0.999 7, n = 6$ ); 检测限和定量限分别为0.2 ng和0.4 ng; 精密性、稳定性、重复性试验结果的RSD均小于2.0%; 平均加样回收率为100.47%, RSD为2.60% ( $n = 9$ ); 样品辐照前(0 kGy)、辐照后(6, 10 kGy)木犀草苷平均含量分别为23.890 1, 16.269 3, 12.743 4 μg/mL, RSD分别为2.73%, 0.50%, 1.36% ( $n = 3$ )。考虑批间差异、药材差异等的影响, 制剂中木犀草苷的含量限度暂定为20 μg/mL。结论 所建立的方法操作简便, 重复性好, 专属性强, 结果可靠, 可用于利咽含漱液的质量评价。利咽含漱液不宜使用 $^{60}\text{Co} - \gamma$ 射线辐照灭菌。

**关键词:**利咽含漱液; 木犀草苷; 高效液相色谱法; 含量测定;  $^{60}\text{Co} - \gamma$ 射线; 辐照

### Effect of $^{60}\text{Co} - \gamma$ - Ray Irradiation on the Content of Luteoloside in Liyan Gargle

SHI Chongjing, LI Ping, WANG Jun, PU Qiuyi, LI Rui, XIAO Jiajia

(Chengdu Integrated TCM & Western Medicine Hospital, Chengdu, Sichuan, China 610095)

**Abstract: Objective** To investigate the effect of  $^{60}\text{Co} - \gamma$  - ray irradiation on the content of luteoloside in Liyan Gargle. **Methods** High-performance liquid chromatography (HPLC) method was adopted. The chromatographic column was Agilent Zorbax Eclipse XDB-C<sub>18</sub> column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile-0.1% phosphoric acid aqueous solution (20:80, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 350 nm, the column temperature was 30 °C, and the injection volume was 10 μL. The samples were irradiated at 6, 10 kGy of  $^{60}\text{Co} - \gamma$  - ray respectively, and the content of luteoloside was determined. **Results** The linear range of luteoloside was 1.895 4 - 47.385 8 μg/mL ( $r = 0.999 7, n = 6$ ). The limit of detection of luteoloside was 0.2 ng, and its limit of quantification was 0.4 ng. The RSDs of precision, stability and repeatability tests were all lower than 2.0%. The average recovery rate of luteoloside was 100.47%, with an RSD of 2.60% ( $n = 9$ ). The average content of luteoloside in the samples was 23.890 1 μg/mL (0 kGy, before irradiation), 16.269 3 μg/mL (after irradiation at 6 kGy) and 12.743 4 μg/mL (after irradiation at 10 kGy), with the RSDs of 2.73%, 0.50% and 1.36% ( $n = 3$ ) respectively. Based on the inter-batch and medicinal differences, the content limit of luteoloside in the preparation was tentatively 20 μg/mL. **Conclusion** The established method is easy, repeatable, specific and reliable, which can be used for quality evaluation of Liyan Gargle.  $^{60}\text{Co} - \gamma$  - ray irradiation sterilization is not suitable for Liyan Gargle.

**Key words:** Liyan Gargle; luteoloside; HPLC; content determination;  $^{60}\text{Co} - \gamma$  ray; irradiation

利咽含漱液由锦灯笼、冰片、硼砂、赤石脂、儿茶、甘草组方, 有清热利咽、消肿止痛、凉血止血、收敛生肌功效, 可用于治疗口咽部肿痛、溃疡、急慢性扁桃体炎等。辐照灭菌是利用 $\gamma$ 射线, 电子加速器产生的高能电子束, 或者X射线杀灭中药中微生物的方式, 可降低药品生产过程中的微生物负载<sup>[1-4]</sup>。 $^{60}\text{Co} - \gamma$ 射线辐照是常用的药品灭菌方法<sup>[5-6]</sup>, 为此, 本研究中建立了高效液相色谱(HPLC)法测定方中君药锦灯笼药效成分木犀草苷的含量<sup>[7-9]</sup>, 并进一步考察了不同剂量 $^{60}\text{Co} - \gamma$ 射线辐照对含量测定结果的影响。现报道如下。

### 1 仪器与试药

#### 1.1 仪器

1260型高效液相色谱仪(美国Agilent公司); BP-211D型电子天平(赛多利斯科学仪器<中国>有限公司, 精度为0.01 mg)。

#### 1.2 试药

木犀草苷对照品(中国食品药品检定研究院, 批号为111720-201810, 含量93.5%); 利咽含漱液(医院制剂室提供, 批号分别为210501, 210701, 210702, 210703); 乙腈、磷酸为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为纯化水。

\*基金项目: 四川省中医药管理局科学技术研究专项课题[2021MS459]。

第一作者: 施崇精, 男, 硕士研究生, 主管中药师, 研究方向为中药药剂与炮制, (电子信箱)1124758663@qq.com。

<sup>△</sup>通信作者: 李萍, 女, 大学本科, 主任中药师, 研究方向为中药药剂与炮制, (电子信箱)871122479@qq.com。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱: Agilent Zorbax Eclipse XDB - C<sub>18</sub> 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈 - 0.1% 磷酸水溶液 (20: 80, V/V); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 350 nm; 柱温: 30 °C; 进样量: 10 μL。

### 2.2 溶液制备

取木犀草苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇, 制成质量浓度为 47.385 μg/mL 的对照品溶液。精密量取样品 2 mL, 置 5 mL 容量瓶中, 加甲醇定容, 摇匀, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。按利咽含漱液的处方及工艺制备缺锦灯笼的阴性样品, 按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

### 2.3 方法学考察

系统适用性及专属性试验: 取 2.2 项下 3 种溶液各适量, 按 2.1 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, 理论板数按木犀草苷峰计大于 5 000, 分离度均大于 1.5, 基线分离良好, 且阴性对照无干扰, 表明专属性良好。详见图 1。

线性关系考察: 精密吸取对照品溶液 (质量浓度为 47.385 8 μg/mL), 加甲醇稀释成质量浓度分别为 1.895 4, 4.738 6, 18.954 3, 28.431 5, 47.385 8 μg/mL 的系列对照品溶液。精密量取 10 μL, 按 2.1 项下色谱条件进样测定。以待测成分质量浓度 ( $X$ , 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  $Y = 31.13X - 15.793$  ( $r = 0.9997, n = 5$ )。结果表明, 木犀草苷质量浓度在 1.895 4 ~ 47.385 8 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好。

检测限与定量限考察: 取 2.2 项下对照品溶液适量, 按 2.1 项下色谱条件进样测定, 分别以信噪比 ( $S/N$ )

为 3:1 和 10:1 时的进样量作为检测限及定量限。结果分别为 0.2 ng 和 0.4 ng。

精密度试验: 取 2.2 项下对照品溶液适量, 按 2.1 项下色谱条件连续进样测定 6 次, 记录木犀草苷峰面积。结果的  $RSD$  为 0.58% ( $n = 6$ ), 表明仪器精密度良好。

稳定性试验: 取 2.2 项下供试品溶液适量, 分别于室温下放置 0, 1, 2, 3, 6, 9, 12, 24 h 时按 2.1 项下色谱条件进样测定, 记录木犀草苷峰面积。结果的  $RSD$  为 1.26% ( $n = 8$ ), 表明供试品溶液在室温下放置 24 h 内基本稳定。

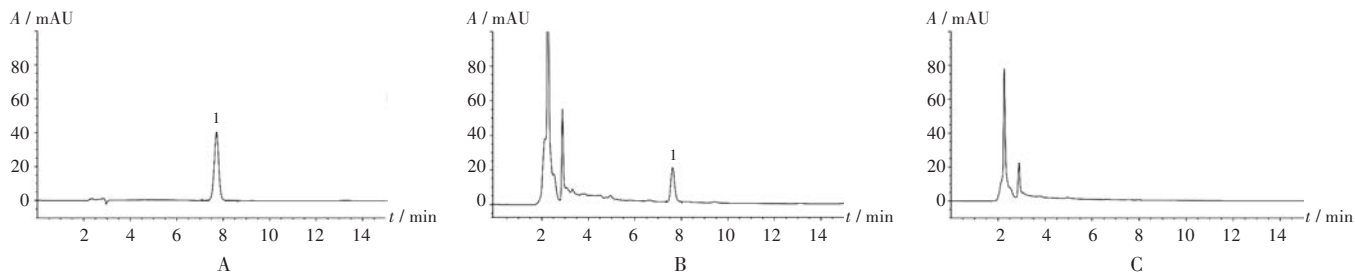
重复性试验: 取样品 (批号为 210501) 适量, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液 6 份, 按 2.1 项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 并计算含量。结果木犀草苷平均含量为 19.857 0 μg/mL,  $RSD$  为 0.87% ( $n = 6$ ), 表明方法重复性良好。

加样回收试验: 精密吸取已知含量的样品 (批号 210501) 1 mL, 共 9 份, 分别置 5 mL 容量瓶中, 精密加入对照品溶液 0.5, 1, 1.5 mL, 各 3 份, 按 2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.1 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。

表 1 加样回收试验结果 ( $n = 9$ )

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

样品含量(μg)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	$RSD$ (%)
19.857 0	9.611 8	29.551 5	100.86		
19.857 0	9.611 8	29.325 1	98.50		
19.857 0	9.611 8	29.245 8	97.68		
19.857 0	19.223 6	39.402 3	101.67		
19.857 0	19.223 6	38.627 0	97.64	100.47	2.60
19.857 0	19.223 6	38.704 0	98.04		
19.857 0	28.835 4	50.069 9	104.78		
19.857 0	28.835 4	49.269 8	102.00		
19.857 0	28.835 4	49.574 1	103.06		



1. 木犀草苷

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图 1 高效液相色谱图

1. Luteoloside

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

Fig. 1 HPLC chromatograms

## 2.4 样品含量测定(辐照前后)

取3批样品,采用 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线分别以6 kGy和10 kGy的剂量辐照,平行2次,即得辐照后的利咽含漱液样品。取辐照前(0 kGy)后样品,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算木犀草苷含量。结果见表2,可见,辐照后样品中木犀草苷含量明显减少,且减少程度与辐照剂量呈正相关。考虑批间差异、药材差异等的影响,利咽含漱液中木犀草苷的含量限度暂定为20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

表2 辐照前后样品含量测定结果( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,  $n=2$ )

Tab. 2 Results of content determination of luteoloside in samples before and after irradiation ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,  $n=2$ )

辐照剂量(kGy)	210701	210702	210703	$\bar{X}$	RSD(%)
0	23.974 3	24.495 6	23.200 4	23.890 1	2.73
6	16.261 1	16.354 3	16.192 6	16.269 3	0.50
10	12.745 9	12.915 0	12.569 4	12.743 4	1.36

## 3 讨论

随着药品监管力度的加强,医院制剂质量控制要求日益提升,逐步从定性分析提升到定量分析,在保证药品质量方面起到了积极作用<sup>[10-12]</sup>。利咽含漱液组方中,锦灯笼清热解毒、利咽,为君药;冰片清热止痛、消肿<sup>[13]</sup>,硼砂清热解毒,共为臣药;赤石脂收敛生肌<sup>[14]</sup>,儿茶收敛生肌、止血<sup>[15]</sup>,共为佐药;甘草清热解毒,缓急止痛,且能调和诸药,为使药。现代药理学研究显示,锦灯笼含生物碱、甾体类、黄酮及其苷类等多种成分,具有抗炎、抗菌、抗肿瘤、抗氧化等生物活性<sup>[16-17]</sup>。

木犀草苷为锦灯笼的药效成分,多采用HPLC法进行含量测定。臣药冰片难溶于水,且受热易挥发,本工艺将冰片兑入冷却的水煎液后混悬使用,不涉及转移率的质量控制,后期拟采用薄层色谱法进行鉴别。臣药硼砂多采用滴定法测定含量,但制剂测定存在颜色干扰;佐药赤石脂无明确指标成分;佐药儿茶、使药甘草用量占比较小,且有效成分在水提液中转移率较低,在本色谱条件下难以有效测定,故均暂未纳入指标成分测定。

预试验中还分别对色谱柱、柱温、流速、检测波长、流动相进行了耐用性试验考察。色谱柱考察了Agilent Zorbax Eclipse XDB -  $\text{C}_{18}$ 柱(250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ )和Agilent Infinitylab Poroshell 120 EC -  $\text{C}_{18}$ 柱(150 mm  $\times$  4.6 mm, 4  $\mu\text{m}$ );柱温考察了28, 30, 32  $^{\circ}\text{C}$ ;流速考察了0.9, 1.0, 1.1 mL/min;检测波长考察了345, 350,

355 nm;流动相比比例考察了乙腈 - 0.1% 磷酸水溶液(19:81、20:80、21:79, V/V)。结果木犀草苷含量的RSD均小于3%,表明该方法耐用性良好。

综上所述,本研究中建立的HPLC法精密度高、重复性好、专属性强,适用于测定利咽含漱液中木犀草苷含量。但其含量经 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照后会大幅下降,对制剂的有效性影响较大,宜考虑其他灭菌方法。

## 参考文献

- [1] 戈雅倩,谢和兵,尼玛次仁,等. 电子束辐照对肉豆蔻药材质量及灭菌效果的影响[J]. 中国药业,2023,32(16):90-93.
- [2] 采金金,谢和兵,尼玛次仁,等. 电子加速器辐照灭菌对肺热普清散质量的影响[J]. 中国药业,2023,32(4):70-74.
- [3] 白洁,迟玉明,金红宇,等. 《中药辐照灭菌技术指导原则》解读[J]. 中成药,2017,39(7):1537-1538.
- [4] 韩振明,关永霞,张微,等.  $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线辐照灭菌对蜈蚣药粉品质的影响研究[J]. 中国药业,2021,30(9):42-45.
- [5] 林彤,毕福钧,吕渭升,等. 中药的辐照灭菌现状与监管[J]. 中国药学杂志,2019,54(17):1442-1447.
- [6] 韦瑞龙,蓝晓庆. 中药钴60辐照灭菌的应用研究进展[J]. 海峡药学,2019,31(8):4-7.
- [7] 邢海燕,李晓亮,张洁,等. 基于传统煎药工艺的锦灯笼饮片标准汤剂质量研究[J]. 广东药科大学学报,2022,38(5):47-52.
- [8] 那红宇. 锦灯笼的质量标准研究[D]. 沈阳:辽宁中医药大学,2021.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:376.
- [10] 罗群,杨忠明,唐定洪,等. 消麻散质量标准研究[J]. 中国药业,2022,31(24):58-62.
- [11] 朴春梅,梁会,周训蓉. 医院制剂榆参洗剂质量标准研究[J]. 中国药业,2018,27(19):11-13.
- [12] 彭艺飞,李佳霖,周蔚. 羌藿蒲蓝胶囊质量标准的建立[J]. 中国药业,2022,31(20):80-83.
- [13] 吴谕锋,朱泽宇,陈靖南,等. 冰片药理作用及冰片酯的研究进展[J]. 药学研究,2020,39(4):217-224.
- [14] 孙文君,周灵君,丁安伟. 矿物药赤石脂的研究进展[J]. 广州化工,2010,38(11):39-41.
- [15] 孟凡佳,刘磊,张文妮,等. 儿茶的研究进展[J]. 科学技术创新,2020(3):45-46.
- [16] 吴爽,倪蕾,张云杰,等. 近十年锦灯笼研究进展[J]. 中药材,2019,42(10):2462-2467.
- [17] 高品一,全梅,杜长亮,等. 中药锦灯笼的研究进展[J]. 沈阳药科大学学报,2014,31(9):732-737.

(收稿日期:2023-03-31;修回日期:2023-06-25)

中国科技核心期刊 中国科技论文统计源期刊

《中国药业》杂志 特别欢迎重点科研、基金项目论文投稿!