

· 研究报告 ·

百部止咳糖浆的质量标准研究

屈 蓉, 仇雅静, 白钢钢, 陈骁鹏, 叶 慧 (泰州市食品药品检验所, 江苏 泰州 225300)

[摘要] **目的** 建立百部止咳糖浆的质量标准。**方法** 采用 TLC 法对百部、桔梗进行定性鉴别; 采用 HPLC 法对橘红的有效成分橙皮苷进行定量测定, 采用 Waters Symmetry C₁₈ 柱, 流动相为乙腈-水(18:82), 检测波长为 284 nm。**结果** 薄层色谱斑点清晰, 阴性样品无干扰。橙皮苷在 0.066 9~1.672 5 μg 范围内线性关系良好($r=0.999 9$), 平均回收率为 96.6%。**结论** 本实验建立的方法简便、重复性好, 可作为百部止咳糖浆的质量控制标准。

[关键词] 百部止咳糖浆; 百部; 桔梗; 橙皮苷; 质量标准

[中图分类号] R284.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2018)01-0071-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.01.015

Study on quality standard of Baibu Zhike syrup

QU Rong, QIU Yajing, BAI Ganggang, CHEN Xiaopeng, YE Hui (Taizhou Institute for Food and Drug Control, Taizhou 225300, China)

[Abstract] **Objective** To establish the quality standard for Baibu Zhike syrup. **Methods** TLC method was used for qualitative identification of *Stemonae Radix* and *Platycodonis Radix*. The content of hesperidin in *Citri Exocarpium Rubrum* was determined by HPLC method on C₁₈ column with mobile phase of acetonitrile-water (18:82). The detection wavelength was 284 nm. **Results** The clear spots on TLC indicated a good separation with no interference to negative control. The linear range of hesperidin was 0.066 9-1.672 5 μg ($r=0.999 9$). The average recovery was 96.6%. **Conclusion** This method is simple, rapid and reproducible. It can be used for the quality control of Baibu Zhike syrup.

[Key words] Baibu Zhike syrup; *Stemonae Radix*; *Platycodonis Radix*; hesperidin; quality standard

百部止咳糖浆为泰州市医院制剂品种,是由百部、炒苦杏仁、桔梗、橘红、法半夏、甘草、紫菀等七味中药加工制成的糖浆剂,具有清肺止咳的功效,用于急慢性支气管炎及小儿百日咳。方中蜜百部润肺止咳为主药,配以炒苦杏仁、桔梗、橘红、法半夏、蜜紫菀止咳燥湿化痰,共为辅药,甘草止咳化痰调和诸药,全方合用,止咳燥湿化痰作用较强。其质量标准收载于《泰州医院制剂规范》,原质量标准中仅有一般鉴别试验及相对密度、装量检查项目。经处方分析,橙皮苷是百部止咳糖浆中重要的活性成分。橙皮苷具有显著的抗炎、抗氧化、祛痰平喘、抗菌、抗癌、调节免疫力、延缓衰老等作用^[1-3],广泛应用于医药、食品及日用化工等领域。根据江苏省食品药品监督管理局关于提高江苏省医院制剂标准的要求,在原标准的基础上,本实验建立了百部、桔梗的薄层

色谱(TLC)鉴别方法,并采用 HPLC 法对制剂中橘红的有效成分橙皮苷^[4]进行定量测定。为控制百部止咳糖浆的质量提供了可靠的依据。

1 仪器与试剂

Waters 2695-2996 高效液相色谱仪;CAMAG 薄层色谱成像系统;METTLER TOLEDO XS105 电子天平。百部对照药材(批号:121221-201003)、桔梗对照药材(批号:121028-200210)、橙皮苷对照品(批号:110721-200613,含量:100%),均购自中国食品药品检定研究院。百部止咳糖浆(批号:20140304、20140421、20140606,泰州市姜堰中医院医疗机构自制制剂)。乙腈为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 百部的薄层鉴别

取本品 20 ml,置分液漏斗中,加浓氨试液 3 ml,再加三氯甲烷振荡提取 2 次(30、20 ml),合并三氯甲烷液,蒸干,残渣加甲醇 1 ml 使之溶解,作为供试

[作者简介] 屈 蓉,副主任中药师,硕士,研究方向:药品质量标准研究及药物分析, Tel:18052616979, Email:qurong81@163.com

[通讯作者] 仇雅静,主任中药师,研究方向:药品质量标准研究, Tel:18052616998, Email:1908368215@qq.com

品溶液。另取百部对照药材 3 g,加水 50 ml,煎煮 30 min,放冷,滤过,滤液同法制成对照药材溶液。取按处方除去百部的阴性样品 20 ml,同法制成阴性样品溶液。吸取上述 3 种溶液各 5 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以二氯甲烷-浓氨试液(20:0.5)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以稀碘化铋钾试液。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,阴性样品无干扰。结果见图 1。



图 1 百部 TLC 图谱

1.百部对照药材;2.供试品;3.阴性样品

2.2 桔梗的薄层鉴别

取本品 20 ml,加 7% 硫酸乙醇溶液-水(10:30)混合溶液 20 ml,加热回流 3 h,放冷,滤过,滤液用三氯甲烷振摇提取 2 次,每次 20 ml,合并三氯甲烷液,加水 30 ml 洗涤,三氯甲烷液用适量无水硫酸钠脱水,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 1 ml 使之溶解,作为供试品溶液。另取桔梗对照药材 3 g,同法制成对照药材溶液。取按处方除去桔梗的阴性样品 20 ml,同法制成阴性样品溶液。吸取上述 3 种溶液各 5 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以二氯甲烷-乙醚(2:3)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇试液,在 110 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,阴性样品无干扰。结果见图 2。

2.3 橙皮苷的定量测定

2.3.1 色谱条件

色谱柱:Waters Symmetry C₁₈ 柱(150 mm \times 4.6 mm,3.5 μ m);流动相:乙腈-水(18:82);检测波长:284 nm;流速:1 ml/min;柱温:35 $^{\circ}$ C,进样量:10 μ l。

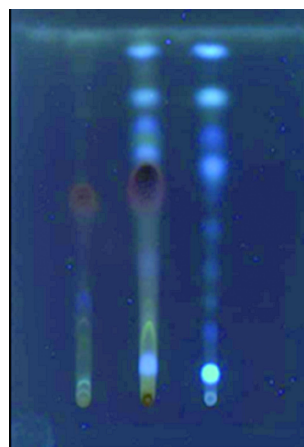


图 2 桔梗 TLC 图谱

1.桔梗对照药材;2.供试品;3.阴性样品

2.3.2 溶液的制备

对照品溶液:精密称取经 P₂O₅ 减压干燥 12 h 的橙皮苷对照品 13.38 mg,置 100 ml 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,精密量取 10 ml,置 20 ml 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

供试品溶液:精密量取本品 10 ml,置 50 ml 量瓶中,加稀乙醇稀释至刻度,摇匀,离心,取上清液,即得。

阴性对照溶液:取按处方除去橘红的阴性样品 10 ml,按供试品溶液的制备方法,制成阴性对照溶液。

2.3.3 系统适用性试验

分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液及阴性对照溶液各 10 μ l,注入液相色谱仪,记录色谱图,在相同的色谱条件下,供试品溶液中橙皮苷峰与各相邻组分峰能较好分离,且阴性对照溶液无干扰。结果见图 3。

2.3.4 线性关系考察

精密吸取橙皮苷对照品溶液(66.9 μ g/ml)1、2、5、10、15、25 μ l,注入液相色谱仪,记录峰面积,以对照品溶液进样量为横坐标(X/μ g),以峰面积(Y)为纵坐标,绘制标准曲线,橙皮苷回归方程为 $Y = 1.7541 \times 10^6 X + 4.0040 \times 10^4$, $r = 0.9999$,结果表明,橙皮苷在 0.0669~1.6725 μ g 范围内与峰面积呈现良好的线性关系。

2.3.5 精密度试验

精密吸取同一对照品溶液 10 μ l,重复进样 6 次,测定其峰面积,分别为 1 256 311、1 266 728、1 258 774、1 253 763、1 271 783、1 257 013。结果 RSD 为 0.56%,表明仪器精密度良好。

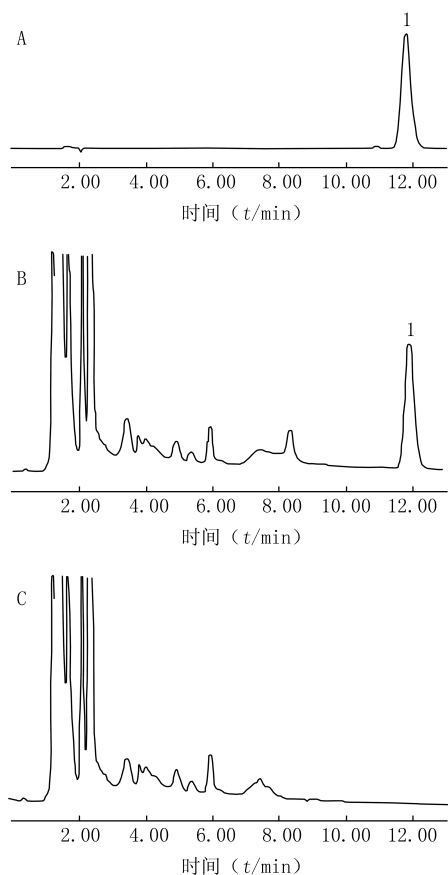


图3 橙皮苷 HPLC 图

A.橙皮苷对照品;B.供试品;
C.阴性样品;1.橙皮苷

2.3.6 重复性试验

精密吸取同一批次(批号:20140304)的样品,按供试品溶液制备方法,依法平行试验6份,测定其峰面积,平均含量为0.314 mg/ml,RSD为0.23%,表明本方法重复性良好。

2.3.7 稳定性试验

精密吸取批号为20140304的供试品溶液10 μl,按上述色谱条件,分别于0、2、4、8、16、24 h测定橙皮苷的峰面积,分别为1 233 793、1 243 303、1 241 922、1 234 730、1 244 248、1 231 279。结果RSD为0.45%,表明供试品溶液在24 h内稳定。

2.3.8 加样回收率试验

精密吸取已知含量为0.314 mg/ml的样品(批号:20140304)5 ml,分别精密加入橙皮苷对照品溶液(0.306 4 mg/ml)5 ml,按供试品溶液制备方法制备6份,在上述色谱条件下测定,计算回收率,结果见表1。

2.3.9 样品测定

精密吸取3个批次的样品,按供试品溶液制备方法制备,在上述色谱条件下,进行含量测定,结果

见表2。

表1 加样回收试验结果(n=6)

供试品 取样量 (v/ml)	供试品中 含有量 (m/mg)	对照品 加入量 (m/mg)	测得量 (m/mg)	回收率 (%)	平均 回收率 (%)	RSD (%)
5	1.570	1.532	3.066	97.65	96.60	0.73
5	1.570	1.532	3.055	96.93		
5	1.570	1.532	3.047	96.41		
5	1.570	1.532	3.037	95.76		
5	1.570	1.532	3.040	95.95		
5	1.570	1.532	3.054	96.87		

表2 样品含量测定结果(n=3)

批号	橙皮苷含量 (mg/ml)	RSD (%)
20140304	0.322	0.18
20140421	0.542	0.49
20140606	0.389	0.57

3 讨论

3.1 选择毒性较低的展开剂

桔梗为桔梗科植物桔梗的干燥根,具有宣肺、利咽、祛痰、排脓的功效^[4]。本实验以桔梗为对照药材,采用酸水解后三氯甲烷提取的前处理方式进行供试品的制备,将展开剂三氯甲烷-乙醚(1:1)^[5]中的三氯甲烷改为毒性较低的二氯甲烷,结果阴性样品有干扰。后将展开剂比例调整为二氯甲烷-乙醚(2:3),结果显示,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。主斑点Rf值符合要求,分离度良好,且阴性对照无干扰。实验中考察了供试品溶液的稳定性,结果发现水解后所得的供试品溶液不宜放置时间过长,否则薄层色谱斑点不清晰,可能与水解产物不稳定有关。

3.2 对紫菀的薄层鉴别的摸索

紫菀为菊科植物紫菀的干燥根和根茎,具有润肺下气、消痰止咳的功效^[4],紫菀酮为其发挥止咳化痰药效的主要成分之一。分别选用三氯甲烷和水饱和的正丁醇对样品进行萃取提取,用相应的展开剂展开,选用不同的显色方式显色。结果在TLC图谱中,与紫菀对照药材及紫菀酮对照品相应的位置上均未见相同颜色的斑点。故最终未能建立紫菀的薄层鉴别方法。

3.3 橙皮苷的含量测定

3.3.1 流动相的选择

参照有关文献的色谱条件^[6,7],比较了以甲醇-

水(35:65)、乙腈-水(20:80)、甲醇-0.5%醋酸(39:61)、乙腈-0.2%磷酸(15:85)作为流动相的色谱效果。结果表明,以乙腈-水(20:80)为流动相,橙皮苷色谱峰理论塔板数高,峰形对称性好,分离度好,保留时间适宜。但主峰前基线有波动,经调整流动相比例为乙腈-水(18:82),达到满意效果。

3.3.2 样品前处理方式的确定

参考文献[8-14],考察了加水稀释、加甲醇稀释、加稀乙醇稀释、加50%甲醇稀释、加甲醇超声、加稀乙醇超声、加50%甲醇超声、加甲醇回流、加稀乙醇回流、加50%甲醇回流,共10种提取方式,其中超声及回流时间均为30 min,结果橙皮苷的峰形及峰面积均差别不大。考虑到前处理的便利,选择稀释法。因本品为糖浆剂,含有大量蔗糖,为保护色谱柱,不选择水为稀释溶剂。考虑到环保,不选择甲醇为稀释溶剂。最终选择加稀乙醇稀释作为样品的前处理方式。

3.3.3 样品含量限度的制订

3批样品中橙皮苷的平均含量为0.418 mg/ml,均值的80%为0.334 mg/ml,暂定百部止咳糖浆中每1 ml含橘红(以橙皮苷 $C_{28}H_{34}O_{15}$ 计)不得少于0.3 mg。

【参考文献】

[1] 钱俊臻,王伯初.橙皮苷的药理作用研究进展[J].天然产物研究与开发,2010,22(1):176-180.

- [2] 张冬松,高慧媛,吴立军.橙皮苷的药理活性研究进展[J].中国现代中药,2006,8(7):25-27.
- [3] 李荣,胡成穆,姜辉,等.橙皮苷的提取及其抗炎活性研究[J].安徽医科大学学报,2007,42(5):546-549.
- [4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典2015年版一部[S].北京:中国医药科技出版社,2015:277,342,378.
- [5] 毛丹,许勇,陆继伟,等.复方桔梗麻黄碱糖浆质量标准研究[J].中成药,2012,34(8):1518-1522.
- [6] 丁毅,弓晓东,谈瑄忠,等.HPLC同时测定通腑理气颗粒中柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷含量[J].中国中医药信息杂志,2012,19(5):53-55.
- [7] 王景文,邢晓东.HPLC法测定宁嗽化痰丸中的橙皮苷[J].药物评价研究,2014,37(3):269-271.
- [8] 王希东,李文俊,王秀琴.HPLC法测定壮心口服液液中柚皮苷和橙皮苷的含量[J].实用医药杂志,2013,30(1):54-55.
- [9] 张瑞.HPLC法测定橘红片中橙皮苷和柚皮苷的含量[J].安徽医药,2013,17(3):401-402.
- [10] 储忠英,吴丽红,徐红艳.HPLC法测定利湿口服液液中绿原酸和橙皮苷的含量[J].药学实践杂志,2013,31(4):300-301.
- [11] 管大平,钱世兵,纪开明.橘红片中橙皮苷含量测定方法研究[J].黑龙江医药,2012,25(5):665-666.
- [12] 赵向阳.反相高效液相色谱法测定小儿百部止咳糖浆中橙皮苷含量[J].中国药业,2007,16(23):18-19.
- [13] 李忻,于倩,李路平.陈皮中橙皮苷的提取方法研究[J].中国药师,2010,13(9):1259-1261.
- [14] 李昂,阚红玉,张囡.HPLC法同时测定疏表灵颗粒中绿原酸、橙皮苷、黄芩苷的含量[J].中国药房,2016,27(27):3872-3874.

[收稿日期] 2017-03-07 [修回日期] 2017-06-05

[本文编辑] 李睿旻