

清咽片质量控制研究

马晓君, 苏何蕾

天津同仁堂集团股份有限公司, 天津 300385

摘要: 目的 建立清咽片的质量控制方法。方法 采用薄层色谱法对冰片进行定性鉴别; 采用高效液相色谱法对没食子酸进行定量测定。色谱柱为翡纳米公司 Kromasil C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以乙腈-含 0.1% 三乙胺的 0.1% 磷酸水溶液 (1:99) 为流动相, 体积流量为 1 mL/min, 检测波长为 273 nm。结果 薄层色谱鉴别斑点清晰, 阴性样品无干扰; 定量测定中没食子酸进样量在 0.007 μg~0.035 μg 与峰面积线性关系良好 ($r=0.9999$); 平均回收率为 98.83%, RSD 为 1.34% ($n=6$)。结论 建立的方法操作简单、准确、专属性和重复性好, 可用于该制剂的质量控制。

关键词: 清咽片; 质量标准; 冰片; 薄层色谱法; 没食子酸; 高效液相色谱法

中图分类号: R917 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2013)03-0190-03

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2013.03.008

Quality control of Qingyan Tablets

MA Xiao-jun, SU He-lei

Tianjin Tongrentang Group Co. Ltd., Tianjin 300385, China

Abstract: Objective To establish the quality standard for Qingyan Tablets. **Methods** *Broneolum Syntheticum* was identified by thin-layer chromatography (TLC); Gallic acid was determined by HPLC. The chromatographic separation was achieved on Kromasil C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) with acetonitrile-0.1% phosphoric acid (1:99) water solution containing 0.1% triethylamine as mobile phase, the flow rate was 1 mL/min, and the detection wavelength was set at 273 nm. **Results** TLC spots developed were fairly clear and the blank test showed no interference; The calibration curve was linear within the range of 0.007—0.035 μg ($r=0.9999$); The average recovery rate was 98.83%, and the RSD value was 1.34% ($n=6$). **Conclusion** The established method is accurate and has the advantages of simple operation with strong specificity and reproducibility, and could be used for the quality control of Qingyan Tablets.

Key words: Qingyan Tablets; quality standard; *Broneolum Syntheticum*; thin-layer chromatography; gallic acid; HPLC

清咽片由桔梗、硼砂、北寒水石、青黛、冰片、薄荷脑、诃子(去核)、甘草(或甘草霜) 8 味药材组成, 有清凉解热、生津止渴之功效。可用于咽喉肿痛、声嘶音哑、口干舌燥、咽下不利的治疗。处方中诃子为君药, 有敛肺止咳、涩肠止泻、利咽开音的功效。冰片为臣药, 有开窍醒神、清热消肿、止痛的功效。本品执行药品标准 WS3-B-3322-98, 现标准中仅规定了性状及青黛的薄层色谱鉴别方法, 为了有效的控制产品的质量, 本文增加了冰片的定性鉴别方法及没食子酸的定量测定方法。修订后的方法可用于清咽片的质量控制。

1 仪器和试剂

仪器: Agilent1200 高效液相色谱仪(四元泵、

自动进样器、Vwd 检测器等), 超声波清洗器(上海超声仪器厂), 冰片对照药材(中国食品药品检定研究院, 批号 110743-200504), 没食子酸对照品(中国食品药品检定研究院, 批号 110831-200803), 清咽片(天津同仁堂集团股份有限公司, 批号为 885040、787032、785026、888046、790045、885038、882005、785027、881002、782007), 缺诃子空白样品(自制), 水(重蒸水), 乙腈为色谱纯, 其他为分析纯。

2 薄层色谱鉴别

2.1 供试品溶液的制备

取本品糖衣片 10 片, 去包衣后研细, 取粉末 1 g, 加乙醚 10 mL, 超声 10 min, 滤过, 滤液挥干,

收稿日期: 2013-01-10

作者简介: 马晓君(1986—), 女, 回族, 助理工程师, 从事中药制剂的开发与评价。

Tel: 1361219858 Fax: (022)26579806 E-mail: maxiaojun19860628@163.com

加醋酸乙酯 2 mL 使溶解, 作为供试品溶液。

2.2 对照药材溶液的制备

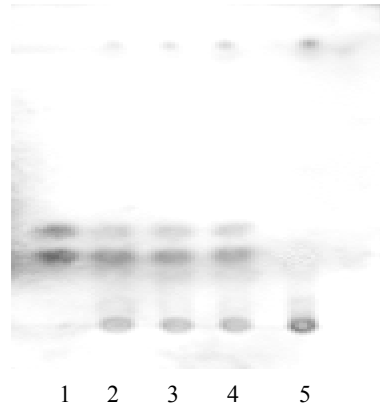
取冰片对照药材, 加醋酸乙酯制成含冰片 1 mg/mL 的溶液, 作为对照药材溶液。

2.3 阴性样品溶液的制备

按处方量取除冰片的其他药味根据制法制成的阴性样品, 取 1 g 粉末, 按“2.1”项下方法制成阴性样品溶液。

2.4 薄层色谱的操作方法

照薄层色谱法(《中国药典》2010年版一部附录 VI B) 试验, 吸取上述对照药材溶液 5 μL, 供试品溶液 10 μL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-醋酸乙酯(19:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 香草醛硫酸溶液, 在 105 °C 加热至斑点清晰。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。见图 1。



1-冰片对照药材 2-样品 885040 3-样品 787032 4-样品 785026
5-阴性对照
1- *Broneolum Syntheticum* reference medicinal materials 2-Sample 885040 3-Sample 787032 4-Sample 785026 5-negative sample

图 1 清咽片中冰片的 TLC 鉴别

Fig.1 Identification of Broneolum Syntheticum by TLC

溶液, 即得。

3.2.2 供试品溶液的制备 取本品糖衣片 10 片, 除去包衣, 研细, 精密称取 0.5 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇溶液 50 mL, 称定质量, 超声提取 30 min (功率 200 W, 频率 40 kHz), 放冷, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液过 0.45 μm 的微孔滤膜, 即得。

3.2.3 空白对照溶液的制备 取缺诃子药材的空白样品 0.5 g, 按照“3.2.2”项下方法操作, 按“3.1”项下条件分析, 进样, 即得。由图谱可知, 阴性样品中相应没食子酸位置上无干扰。见图 2。

3 没食子酸的定量测定

3.1 色谱条件

色谱柱为翡纳米公司 Kromasil C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-含 0.1% 三乙胺的 0.1% 磷酸水溶液 (1:99), 进样量 10 μL, 检测波长 273 nm, 进样方式为自动进样, 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 25 °C。

3.2 溶剂的制备

3.2.1 对照品溶液的制备 取没食子酸对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成质量浓度为 20 μg/mL 的

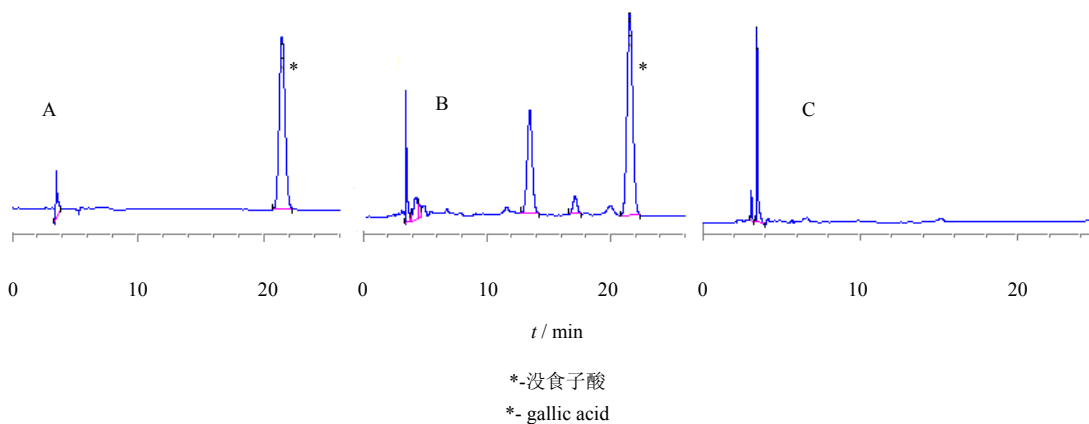


图 2 对照品 (A)、供试品 (B)、阴性对照 (C) 的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC Chromatogram of reference substance (A), sample (B), and negative sample (C)

3.3 线性关系考察

精密称取没食子酸对照品 7.1 mg, 置 100 mL 棕色量瓶中, 加 50% 甲醇溶液稀释至刻度, 摇匀, 作为储备液, 再分别精密吸取 1、2、3、4、5 mL

于 10 mL 量瓶, 甲醇定容至刻度, 分别进样 10 μL, 按“3.1”项下条件分析, 测定峰面积, 以没食子酸对照品进样量 (μg) 为横坐标, 峰面积值为纵坐标, 绘制没食子酸标准曲线, 得回归方程 $Y=25\ 120X-$

10.840 ($r=0.9999$), 结果表明没食子酸在 0.007~0.035 μg 线性良好。

3.4 重复性试验

本品(批号 885040)除去包衣,研细,按照“3.2.2”项下方法精密称取 0.5 g,共 6 份,精密加入 50%甲醇溶液 50 mL,按“3.1”项下条件每份进样两次求平均值,测得没食子酸平均含量为 0.753 3 mg/片,RSD 为 1.46%。

3.5 稳定性试验

本品(批号 885040)除去包衣,研细,按照“3.2.2”项下方法操作,精密称取 0.4 g,精密加入 50%甲醇溶液 50 mL,按“3.1”色谱条件分析,分别在 0、2、4、6、8、12 h 进样,测得各自峰面积值的 RSD 为 1.39%。

3.6 回收率试验

本品(批号 885040)除去包衣,研细,精密称取 0.25 g,共 6 份,分别精密加入 15.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 没食子酸标准溶液 50 mL(相当于 0.75 mg 没食子酸),再按照“3.2.2”项下制备供回收率测定用供试品溶液,按“3.1”色谱条件进样分析,计算没食子酸回收率,结果平均回收率为 98.83%,RSD 为 1.34%。

3.7 清咽片中没食子酸的含量测定

取样品(为糖衣片),按照“3.2.2”项下方法操作,按“3.1”项下条件测定 10 批清咽片的没食子酸含量,结果见表 1。

4 讨论

4.1 提取时间的考察

本实验考察了分别超声提取 20、30、40 min 所得溶液的峰形及干扰项,结果超声 30 min 所测的含量高于 20 min,与超声 40 min 所测得的含量比较无明显变化,故采用超声 30 min 提取。

4.2 流动相及色谱柱的选择

考虑到没食子酸的物理性质,根据文献提及经典流动相,经过 Agilent1200 高效液相色谱仪多泵在线混合的优势试用不同比例的乙腈-水、甲醇-水、0.5%醋酸水-甲醇、乙腈-0.1%磷酸等系统流动相,

表 1 供试品中没食子酸的定量测定结果

Table 1 Quantitative determination of gallic acid in samples

批号	没食子酸/(mg·片 ⁻¹)
885040	0.573 3
787032	0.550 3
785026	0.581 5
888046	0.685 3
790045	0.740 0
885038	0.579 3
882005	0.749 0
785027	0.565 0
881002	0.554 5
782007	0.572 0

经比较采用乙腈-含 0.1%三乙胺 0.1%磷酸水溶液(1:99)为流动相出峰时间最适宜,峰形最好,且采用翡纳米公司 Kromasil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)色谱柱分离效果良好,没食子酸峰与相邻杂质峰分离度大于 1.5。

4.3 不同色谱柱对含量测定的影响

Agilent 1200 高效液相色谱仪,分别采用 Dikma-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Ameritech Accurasil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Phenomenex Luna C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Kromasil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)色谱柱按“3.1”色谱条件分析,取批号为 885040 供试品溶液,测定样品中没食子酸的含量结果分别为 0.573 8、0.574 5、0.572 8、0.573 3 mg/片,结果表明使用不同色谱柱对含量测定无明显影响。

参考文献

- [1] 中国药典[S]. 一部. 2010.
- [2] 杜平,曲佳,毕丽萍. 达原滴丸质量标准研究[J]. 天津药学, 2012, 24(3): 14-17.
- [3] 照日格图,其乐木格. 高效液相法测定蒙药沙日-汤中没食子酸的含量[J]. 中国民族民间医药, 2008, 17(12): 16-18.