

## · 论 著 ·

## 小儿退热镇惊口服液质量标准研究

刘文雅, 方 李, 王曙东

**〔摘要〕** 目的 改进小儿退热镇惊口服液的质量标准。方法 对知母、金银花进行薄层色谱定性鉴别,并增加了高效液相色谱法测定金银花中绿原酸的含量。结果 薄层色谱斑点清晰,阴性无干扰;含量测定中绿原酸在 7.38 ~ 51.66  $\mu\text{g/ml}$  范围内线性关系良好( $r=0.9999$ ),平均加样回收率为 100.13%,RSD 为 1.44%。结论 本试验建立的定性及定量方法简单可行,结果准确可靠,重现性好,可以用于完善小儿退热镇惊口服液的质量标准。

**〔关键词〕** 小儿退热镇惊口服液;绿原酸;薄层色谱;高效液相色谱

中图分类号: R927.2 文献标志码: A 文章编号: 1672-271X(2010)06-0490-03

## Study on quality standard for Xiao'er Tuireshenjing oral liquid

LIU Wen-ya, FANG Li, WANG Shu-dong. Department of Preparation, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command, PLA, Nanjing, Jiangsu 210002, China

**〔Abstract〕 Objective** To improve the quality standard for Xiao'er Tuireshenjing oral liquid. **Methods** The identification method for Rhizoma Anemarrhenae and Flos Lonicerae were improved. The content of chlorogenic acid was determined by HPLC. **Results** The spots on TLC plates were clear without the interference of negative control. Chlorogenic acid showed a linear relationship within the concentration range of 7.38 to 51.66  $\mu\text{g/ml}$  ( $r=0.9999$ ). The average recovery was 100.13%, and RSD = 1.44%. **Conclusion**

The qualitative and quantitative methods established in this study are simple, feasible, accurate and reproducible. It can be used to improve the quality standard for Xiao'er Tuireshenjing oral liquid.

**〔Key words〕** Xiao'er Tuireshenjing oral liquid; chlorogenic acid; TLC; HPLC

小儿退热镇惊口服液是《中国人民解放军医疗机构制剂规范》所载的中药成方制剂<sup>[1]</sup>,全方由金银花、知母等五味药组成,具有清热泻火、安神定惊之功效,为进一步提高其质量标准,本试验在原标准的基础上,采用新的供试品溶液制备方法对其中知母、金银花进行了定性鉴别,增加了用高效液相色谱法测定金银花中绿原酸含量,旨在为控制其质量提供客观定性定量的评价方法,完善本制剂的质量标准。

## 1 仪器与试药

**1.1 仪器** Waters 高效液相色谱仪(Waters 1525 双泵, Waters 2487 紫外检测器, Waters 717 自动进样器, Waters Empower 色谱软件), Mettler Toledo AE240 十万分之一电子天平, KQ2200DB 型数控超

声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

**1.2 试药** 小儿退热镇惊口服液(南京军区南京总医院制剂科自制,批号:090224, 090226, 090302); 菝契皂苷元对照品(由中国药品生物制品检定所提供,批号:110744-200509), 绿原酸对照品(由中国药品生物制品检定所提供,批号:110753-200413); 硅胶 G(薄层层析用)(青岛海洋化工厂); 甲醇、冰醋酸均为色谱纯,水为双蒸水,其他试剂均为分析纯。

## 2 试验方法与结果

## 2.1 两种药品的定性鉴别

2.1.1 知母的薄层色谱鉴别<sup>[2]</sup>

2.1.1.1 供试品溶液的制备 取本品 20 ml,加乙醚振摇提取 2 次,每次 20 ml,弃去乙醚液,再加正丁醇振摇提取 2 次,每次 20 ml,合并正丁醇液,加浓盐酸 3 ml,水浴回流 1 h,倾入蒸发皿中,置水浴上蒸干,残渣加乙醇 3 ml 使其溶解,加水 10 ml,移入分液漏斗中,加石油醚(30 ~ 60℃) 20 ml 振摇提取,分取石油醚层加氨试液洗涤 3 次,每次 10 ml。取石油

基金项目:南京军区南京总医院科研基金资助项目(M2008052)

作者简介:刘文雅(1979-),女,河南南阳人,硕士,药师,从事中药制剂工作

作者单位:210002 江苏南京,南京军区南京总医院制剂科

醚液蒸干,残渣加石油醚 1 ml 使其溶解,作为供试品溶液。原标准所用苯有毒性,现将苯全部改为石油醚(30~60℃),不影响鉴别效果。

2.1.1.2 对照品溶液的制备 取菝葜皂苷元对照品,加石油醚制成每 1 ml 含 0.5 mg 的溶液,作为对照品溶液。

2.1.1.3 阴性对照溶液的制备 按处方量 1% 的量,称取除知母以外的其余药材按制剂工艺及供试品溶液制备方法制备。

2.1.1.4 试验方法 薄层色谱法试验<sup>[3]</sup>,吸取上述两种溶液各 10  $\mu$ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚-丙酮(9:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 香草醛硫酸溶液,热风吹至斑点显色清晰。结果显示,3 批样品中均含有与对照品相同颜色的斑点,而阴性对照无此斑点,表明有知母的存在;同时可以看出,石油醚(30~60℃)萃取制备的供试品溶液斑点清晰。原标准展开剂为苯-丙酮(9:1),现改为石油醚-丙酮(9:1)展开,效果很好。

2.1.2 金银花的薄层色谱鉴别<sup>[4,5]</sup>

2.1.2.1 供试品溶液的制备 取本品 10 ml 置蒸发皿中,加 2 g 氧化铝搅拌,水浴挥干,加入甲醇 10 ml 充分搅拌后滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇 5 ml 使其溶解,作为供试品溶液。

2.1.2.2 对照品溶液的制备 取绿原酸对照品,加甲醇制成每 1 ml 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。

2.1.2.2 阴性对照溶液的制备 按处方量 1% 的量,称取除金银花以外的其余药材按制剂工艺及供试品溶液制备方法制备。

2.1.2.3 试验方法 参照薄层色谱法试验,吸取上述两种溶液各 10  $\mu$ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以醋酸丁酯-甲酸-水(14:5:5)的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,阴性对照无干扰。

## 2.2 绿原酸的含量测定

2.2.1 色谱条件<sup>[6-8]</sup> 色谱柱: Hadera-ODS-2 C18 柱(4.6  $\times$  250 mm, 5  $\mu$ m); 流动相: 甲醇-水-冰醋酸(17:83:1); 检测波长: 374 nm; 流速: 1.0 ml/min; 柱温: 25℃; 进样量: 10  $\mu$ l; 理论塔板数按绿原酸峰计算不低于 2000。

2.2.2 对照品溶液的制备 取绿原酸对照品适量,精密称定,加 50% 甲醇制成每 1 ml 含 147.6  $\mu$ g 绿原酸的对照品溶液。

2.2.3 供试品及阴性样品溶液的制备 精密吸取本品 1 ml,置 25 ml 量瓶中,加约 20 ml 50% 甲醇超

声处理 30 min,放冷至室温,加 50% 甲醇至刻度,摇匀,微孔滤膜滤过,即得供试品溶液。另按处方量 1% 的量,称取除金银花以外的其余药材按制剂工艺及供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。

2.2.4 干扰试验 取绿原酸对照品溶液、样品溶液及阴性样品溶液进样测定,结果显示在此色谱条件下,阴性对照对测定无干扰。

2.2.5 线性关系考察 精密吸取绿原酸对照品溶液(147.6  $\mu$ g/ml)0.5、1.0、1.5、2.5、3.5 ml 置于 10 ml 量瓶中,用 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,分别精密吸取 10  $\mu$ l,注入液相色谱仪,按 2.2.1 项下的色谱条件测定峰面积,以峰面积积分值(A)与对照品溶液浓度(C)进行线性回归,得回归方程:  $A = 28346C - 22088$ ,  $r = 0.9999$ 。结果表明,绿原酸在 7.38 ~ 51.66  $\mu$ g/ml 与其峰面积呈良好的线性关系。

2.2.6 最低检测限 当绿原酸进样量 0.3 ng 时,呈现 0.25 mV 强度的色谱峰,信号与噪音之比约为 3,故样品最低检测限为 0.3 ng。

2.2.7 精密度试验 取 22.14  $\mu$ g/ml 绿原酸对照品溶液 10  $\mu$ l,在相同色谱条件下重复进样测定 5 次,记录峰面积, RSD 为 0.22%。

2.2.8 重现性试验 取同一批供试品溶液,各精密吸取 1 ml,共 5 份,分别按供试品测定法测定,记录峰面积, RSD 为 1.25%。

2.2.9 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于 0、2、4、8、10 h 进样,测定绿原酸峰面积, RSD 为 1.57%。

2.2.10 回收率试验 按供试品标示量的 80%、100%、120% 精密吸取小儿退热镇惊口服液样品 0.8、1.0、1.2 ml,共 6 份,置于 25 ml 量瓶中,分别按照对应比例加入对照品溶液 3.2、4.0、4.8 ml,再加 20 ml 50% 甲醇超声处理 30 min,放冷至室温,微孔滤膜滤过,进样测定。计算得绿原酸平均回收率为 100.13%, RSD 为 1.44%,结果见表 1。

表 1 绿原酸加样回收率试验结果( $n=6$ )

取样量 (ml)	样品量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	$\bar{x}$ (%)	RSD (%)
0.8	0.601	0.472	1.087	102.88	100.13	1.44
0.8	0.601	0.472	1.072	99.85		
1.0	0.751	0.590	1.339	99.70		
1.0	0.751	0.590	1.336	99.14		
1.2	0.901	0.708	1.612	100.37		
1.2	0.901	0.708	1.601	98.86		

2.2.11 样品测定 精密吸取三个批次的样品溶液

1 ml,按供试品溶液测定法测定峰面积,计算样品中绿原酸的含量,结果见表 2。

表 2 小儿退热镇惊口服液中绿原酸含量测定结果( $n=3$ )

批号	绿原酸含量(mg/ml)	RSD(%)
090224	0.792	0.89
090226	0.736	0.57
090302	0.748	0.72

### 3 讨论

知母的定性鉴别原标准供试品溶液制备时用苯萃取,由于苯有毒性,本试验改用石油醚(30~60℃)萃取,结果证明效果很好;原来的展开剂苯-丙酮(9:1)改为石油醚-丙酮(9:1)效果亦很好。金银花的定性鉴别原标准采用醋酸乙酯提取,效果不理想,由于绿原酸在醋酸乙酯中溶解度很小,而在甲醇中的溶解度比较大,试验改用甲醇提取,并先加入氧化铝除去部分杂质,供试品荧光斑点清晰,且阴性对照无干扰。测定绿原酸含量曾采用乙腈-0.4%磷酸溶液(13:87)、甲醇-水-冰醋酸(17:83:1)作为流动相,结果采用流动相乙腈-0.4%磷酸溶液(13:87)时,样品色谱中主峰与杂质峰很难达到基线分离,而采用

流动相甲醇-水-冰醋酸(17:83:1)时样品色谱峰分离好。

本试验建立的定性及定量方法简单可行,结果准确可靠,重现性好,可以用于完善小儿退热镇惊口服液的质量标准。

### 【参考文献】

- [1] 中国人民解放军总后勤部卫生部. 中国人民解放军医疗机构制剂规范[S]. 北京:人民军医出版社,2002:19-20.
- [2] 李若存,陈丹. 降糖通络胶囊质量标准研究[J]. 中国中医药信息杂志,2005,12(7):41.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京:化学工业出版社,2005:附录VIB.
- [4] 吴海洋,陈翠. 银翘退热颗粒的质量标准研究[J]. 东南国防医药,2010,12(2):125-127.
- [5] 于天杰,张玲昂. 咽炎合剂的质量控制[J]. 中国实用医药,2009,4(26):151-152.
- [6] 汪旭,金向群,睢诚. 高效液相色谱法测定双贯感宁颗粒中绿原酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(3):22.
- [7] 王杰,魏超,吕曙华. HPLC法测定芎菊上清丸中绿原酸[J]. 中草药,2006,37(7):1032.
- [8] 彭波. 高效液相色谱法测定抗破伤风合剂中绿原酸的含量[J]. 中国医院药学杂志,2008,28(22):1970-1971.

(收稿日期:2010-06-24;修回日期:2010-08-22)

(本文编辑:潘雪飞;英文编辑:王建东)

(上接第 489 页)继续升高,氧饱和度进行性下降,病情迅速恶化并渐昏迷,诊断为 SLE 合并重症肺部感染、多器官功能衰竭(急性呼吸窘迫综合征、急性心力衰竭、肾功能衰竭)。给予:①气管插管,机械通气;②床边连续性血液净化治疗(CBP);③广谱抗生素抗感染;④输注红细胞、血浆、人血白蛋白、丙种球蛋白等支持治疗;⑤甲泼尼龙抗炎,洛赛克止血等救治。经 CBP 治疗 10 h 后,患者神志逐渐清醒,体温、血压渐趋平稳。其他实验室检查示:柯萨奇病毒抗原抗体、巨细胞病毒抗体、支原体抗体、衣原体抗体、丙肝抗体均阴性,血培养、真菌 G 试验、革兰阴性杆菌类毒素测定均阴性;淋巴细胞示:CD<sub>3</sub>226 个/ $\mu$ l、CD<sub>4</sub>106 个/ $\mu$ l、CD<sub>8</sub>118 个/ $\mu$ l。12 月 31 日胸片示两肺病变较前明显吸收,拔除气管导管,经鼻导管吸氧。2010 年 1 月 2 日患者咳嗽消失。1 月 5 日胸片示原两肺病灶已基本吸收。1 月 9 日生化检查各项指标基本复常。从 1 月 15 日起开始血透。随访至今,患者病情稳定。

### 2 讨论

SLE 是一种累及多系统、多器官的自身免疫性疾病,体内存在多种免疫异常,加上治疗上需长期使用糖皮质激素等免疫抑制剂,导致患者免疫功能低下,常易并发各种感染,包括病毒、细菌、真菌等感染<sup>[1-2]</sup>。本例患者可能是病毒感染在先,继而合并细菌感染,导致多器官功能衰竭。该患者的成功救治经验为:①立即气管插管行机械通气(呼气末正压呼吸);②及时床边 CBP 治疗,解除毒血症、肺水肿;③积极给予营养支持治疗,增加免疫力,确保免疫重建。

### 【参考文献】

- [1] 沈敏,王玉,许文兵,等. 系统性红斑狼疮肺部受累的临床表现[J]. 中华医学杂志,2005,85(48):3392-3395.
- [2] 杨珂珂,李志军,陈琳洁,等. 系统性红斑狼疮合并感染 158 例临床分析[J]. 中国感染与化疗杂志,2008,8(5):362-365.

(收稿日期:2010-04-26;修回日期:2010-06-18)

(本文编辑:潘雪飞)