

· 论 著 ·

医院制剂感冒颗粒质量标准研究

金伟华,于波涛,陈 华,张 明,范开华,蒲志强,宋宗辉(原成都军区总医院药剂科,四川 成都 610083)

[摘要] **目的** 建立医院制剂感冒颗粒的质量标准。**方法** 采用薄层色谱法(TLC)对黄芩、黄柏、柴胡进行薄层鉴别;采用高效液相色谱法(HPLC)测定黄芩苷的含量,色谱柱为 Agilent HC-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-0.2%磷酸(43:57),流速为 1.0 ml/min,柱温 30 ℃,检测波长为 280 nm。**结果** 黄芩、黄柏、柴胡的薄层色谱图均斑点清晰,阴性无干扰;黄芩苷在 1.81~72.40 μg/ml 范围内浓度与峰面积线性关系良好($r=0.999\ 9$),平均回收率为 98.55%,RSD 为 1.91% ($n=9$)。**结论** 本研究建立的鉴别方法重现性更好,确定了黄芩苷的含量测定方法,增强了该制剂质量的可控性。

[关键词] 感冒颗粒;黄芩苷;薄层鉴别;高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2016)06-0534-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.06.013

Study on quality standards of hospital preparation Ganmao granules

JIN Weihua, YU Botao, CHEN Hua, ZHANG Ming, FAN Kaihua, PU Zhiqiang, SONG Zonghui (Department of Pharmacy, General Hospital of Chengdu Military Command, Chengdu 610083, China)

[Abstract] **Objective** To establish a quality standard for Ganmao granules of hospital preparations. **Methods** Radix Scutellariae, cortex phellodendri and radix bupleuri were identified by thin layer chromatography (TLC) qualitatively. High performance liquid chromatography (HPLC) was used for the content of baicalin. The determination was performed on Agilent HC-C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) at 30 ℃ with mobile phase composed of methanol-0.2% phosphoric acid (43:57) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 280 nm. **Results** In TLC chromatograms, the spectra of different test products had spots of the same color at corresponding sites, with no interference from negative control. A good linearity range of baicalin was 1.81~72.40 μg/ml ($r=0.999\ 9$). The average recovery rate was 98.55% (RSD=1.91%, $n=9$). **Conclusion** The quality standard was established and the method of identification has good reproducibility. The method of determination of baicalin content improved the controllability of formulated quality of Ganmao granules.

[Key words] Ganmao granules; baicalin; TLC; HPLC

医院制剂感冒颗粒(CJFB-Z-2011-013)处方由黄芩、黄柏、柴胡、芦根、板蓝根等十一味中药组成,是成都军区总医院名老中医的临床验方,清热解毒,适用于感冒、头痛发热、流感及上呼吸道感染。经过多年的临床应用,已成为疗效确切的验方。感冒是一种常见病、多发病,本院制剂感冒颗粒的应用非常广泛,而且得到了患者好评。本研究建立了医院制剂感冒颗粒的质量标准,对黄芩、黄柏、柴胡进行薄层鉴别。选黄芩苷用 HPLC 作为含量测定的指标,建立了黄芩苷的含量测定方法及含量限度,为有效控制感冒颗粒的质量提供了可靠的保障。

1 仪器与试药

Agilent 1200 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);AL204 型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];HH-S24S 数显恒温水浴锅(上海君竺仪器制造有限公司);VGT-1990QTD 型超声仪(功率:240 W,频率:40 kHz)(苏州江东精密仪器有限公司);TGL-18G-C 型高速台式离心机(上海安亭科学仪器厂);DU730 型紫外分光光度计(美国贝克曼仪器公司);紫外分析仪(上海科学仪器厂)。

黄芩苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110715-201117);黄柏对照药材(中国食品药品检定研究院,批号:121510-201105);芦丁对照品(中国药品生物制品检定所,批号:100416-201004);甲醇为色谱纯,水为重蒸馏水,其余试剂均为分析纯,硅胶 G 板(青岛海浪硅胶干燥剂厂);医院制剂感冒

[作者简介] 金伟华,本科,副主任药师。研究方向:医院药学。Tel:(028)86570424;E-mail:jwh311@sina.com

[通讯作者] 范开华,硕士,主任药师,硕士研究生导师。研究方向:医院药学。Tel:(028)86570425;E-mail:fankeyi@sohu.com

颗粒供试品3批(140901、140902、140903)及阴性样品均由本院制剂中心提供。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

2.1.1 黄芩 取本品10.0 g,研细,加甲醇30.0 ml,超声处理15 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇1.0 ml使之溶解,制成供试液。另取黄芩苷的对照品,加甲醇配制为每1.0 ml含1.0 mg的溶液,作为对照品溶液。另取医院制剂感冒颗粒缺黄芩的阴性样品10.0 g,照供试液制备方法制备阴性样品溶液。参照薄层色谱(TLC)法(《中华人民共和国药典》2010版一部附录VI B)^[1,2]试验,吸取上述溶液各5 μ l,点于同一自制以羧甲基纤维素钠为黏合剂且含4%醋酸钠的硅胶G板上,以甲酸-乙酸乙酯-丁酮-水(1:5:3:1)为展开剂,预饱和10min,展开,取出,晾干,用含1%三氯化铁的乙醇溶液喷洒。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,阴性无干扰。

2.1.2 黄柏^[3,4] 取本品10.0 g,研细,加入甲醇30.0 ml,超声处理15 min,滤过,滤液蒸干,残渣加入甲醇1.0 ml使之溶解,制成供试品溶液。另取黄柏的对照药材1.0 g,加入甲醇30.0 ml,超声处理

15 min,滤过,滤液蒸干,残渣加入甲醇1.0 ml使之溶解,作为对照药材供试液。另取医院制剂感冒颗粒缺黄柏的阴性样品10.0 g,同供试液制备方法制成阴性供试液。取上述对照药材供试液2 μ l、供试液5 μ l、阴性供试液5 μ l,点于同一预制硅胶G薄层板上,以乙酸乙酯-环己烷-甲醇-异丙醇-水-三乙胺(3.5:3:1.5:1:0.5:1)为展开剂,对槽加与展开剂等量的浓氨水,饱和20min后,展开、取出、晾干,置紫外线(365 nm)下检视,结果在供试品色谱中,与对照药材色谱相应位置上,显相同颜色的斑点,阴性无干扰。

2.1.3 柴胡^[5,6] 取本品10.0 g,研细,加甲醇30.0 ml,超声15 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇1.0 ml使之溶解,作为供试品溶液。另取芦丁对照品,加甲醇制成每1.0 ml含4.0 mg的溶液,作为对照品溶液。另取医院制剂感冒颗粒缺柴胡的阴性样品10.0 g,同供试品溶液制备方法制得阴性供试液。参照TLC法^[1]试验,吸取上述溶液各10 μ l,分别点于同一硅胶G薄层板上,以乙酸乙酯-甲酸-水(8:1:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以三氯化铝试液,在105 $^{\circ}$ C加热0.5 h挥干乙醇后,置紫外线(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,阴性无干扰。

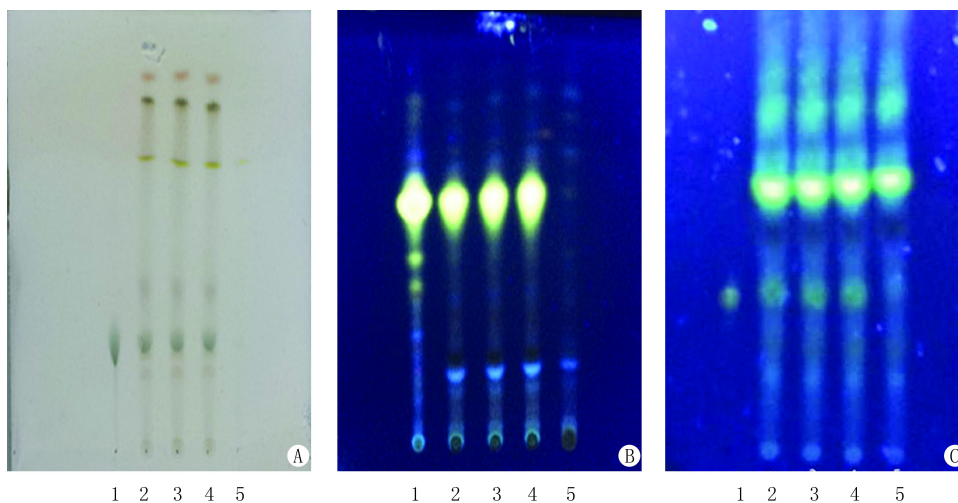


图1 黄芩、黄柏、柴胡的TLC图

A.黄芩;B.黄柏;C.柴胡;1.对照品或对照药材;2~4.供试品;5.阴性对照

2.2 黄芩苷的含量测定^[7-9]

2.2.1 色谱条件 色谱柱:Agilent HC-C₁₈(250 mm \times 4.6 mm,5 μ m);流动相:甲醇-0.2%磷酸(43:57);流速为1.0 ml/min;检测波长为280 nm;柱温为30 $^{\circ}$ C。

2.2.2 对照溶液的制备 取黄芩苷对照品适量,精

密称定,加甲醇制成每1.0 ml含50 μ g的溶液,即得。

2.2.3 供试液的制备 取装量差异的本品内容物,研细,取约1.0 g,精密称定,置于具塞的锥形瓶中,精密加入50.0 ml甲醇,密塞,称重,超声处理30 min,放冷,再称重,以甲醇补足减少的重量,摇

匀,离心 5 min,滤过,保存续滤液,即得。

2.2.4 阴性对照液的制备 取感冒颗粒缺黄芩的阴性样品适量,研细,取约 1.0 g,精密称定,置于具塞的锥形瓶中,精密加入 50.0 ml 甲醇,密塞,称重,超声处理 30 min,放冷,再称重,以甲醇补足减少的

重量,摇匀,离心 5 min,滤过,取续滤液,即得。

2.2.5 专属性试验 分别精确吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照液各 10 μ l,注入液相仪,按以上色谱条件测定。结果表明,阴性对照对供试品中黄芩苷的检测无干扰。图 2 为黄芩苷的 HPLC 图。

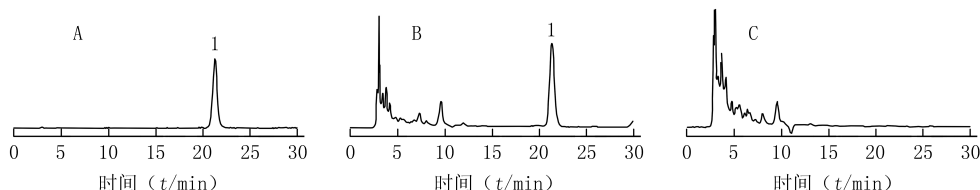


图 2 黄芩苷 HPLC 图

A. 对照品溶液; B. 供试品溶液; C. 阴性对照液; 1. 黄芩苷

2.2.6 线性关系考察 取黄芩苷对照品,精密称定,加甲醇制成 72.4 μ g/ml 的对照品储备液。再分别取适量对照品储备液,精密量取,加甲醇制成每 1.0 ml 中含 1.81、3.62、7.24、14.48、28.96、57.92、72.40 μ g 的线性试验用对照品溶液。分别精密吸取上述对照品溶液 10 μ l,注入液相仪,测定,记录色谱图。以测定浓度为横坐标,以峰面积作纵坐标,绘制标准曲线。回归方程为: $Y = 23.513 X - 4.8077$ ($r = 0.9999$),证明黄芩苷在 1.81~72.40 μ g/ml 范围内浓度与峰面积呈良好的线性关系。

2.2.7 精密度考察 取“2.2.6”项下 28.96 μ g/ml 黄芩苷对照品溶液,精密吸取 10 μ l 注入液相仪,重复测定 6 次,记录峰面积,计算 RSD 为 0.42%,表明该仪器有良好的精密度。

2.2.8 稳定性考察 取装量差异项下的本品内容物(批号:140903)约 1.0 g,精密称定,照“2.2.3”项下方法制备供试液,分别放置 0、2、4、8、12、24 h,进样测定,记录峰面积,计算 RSD 为 0.55%,表明供试液在 24 h 内较为稳定。

2.2.9 重复性考察 取装量差异项下的本品内容物(批号:140903)6 份,每份约 1.0 g,精密称定,照“2.2.3”项下方法制备供试液,进样测定,记录峰面积,计算黄芩苷含量,RSD 为 2.41%,表明该方法有良好的重复性。

2.2.10 回收率试验 取已知含量样品(批号:140903)9 份,每份约 0.5 g,精密称定,每 1 g 样品平均含黄芩苷 2.4 mg,按样品中黄芩苷含量的 80%、100%、120% 分别精密加入对照品溶液 13.2、16.5、19.9 ml,照“2.2.3”项下方法制备供试液,进样测定,记录峰面积并计算其回收率,结果见表 1。

2.2.11 样品含量的测定 取装量差异项下的本品内容物约 1 g,照“2.2.3”项下方法制备供试液,进

样测定,共测定 3 批样品,结果见表 2。

表 1 回收率试验结果($n=9$)

取样量 (m/g)	样品含量 (m/mg)	加样量 (m/mg)	测得量 (m/mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.5011	1.201	0.958	2.127	96.65		
0.5036	1.207	0.958	2.146	98.00		
0.5007	1.200	0.958	2.141	98.18		
0.5021	1.203	1.198	2.385	98.68		
0.5014	1.202	1.198	2.379	98.22	98.55	1.91
0.5019	1.203	1.198	2.376	97.91		
0.5023	1.204	1.438	2.625	98.79		
0.4992	1.196	1.438	2.594	97.25		
0.5048	1.210	1.438	2.695	103.25		

表 2 样品含量测定结果($n=9$)

样品批号	黄芩苷含量 (mg/袋)	平均含量 (mg/袋)
140901	19.56	
140901	19.48	
140901	19.34	
140902	19.71	
140902	19.85	19.81
140902	19.87	
140903	20.16	
140903	20.23	
140903	20.09	

3 讨论

在黄芩的薄层鉴别实验中,《中国药典》2010 版使用的薄层板为聚酰胺薄膜^[1],笔者发现其分离度不理想,重现性较差,而当采用自制含 4% 醋酸钠的羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板后,以甲

(下转第 551 页)

- 效与安全性的系统评价[J].中国循证医学杂志,2012,12(2):201-208.
- [2] 孙莹.氟喹诺酮类药物治疗我国耐多药肺结核疗效的系统评价[D].沈阳:中国医科大学,2013.
- [3] Kang D, Wu Y, Hu D, et al. Reliability and external validity of AMSTAR in assessing quality of TCM systematic reviews [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2012, 2012, 732195.
- [4] 熊俊, 陈日新. 系统评价/Meta 分析方法学质量的评价工具 AMSTAR [J]. 中国循证医学杂志, 2011, 11(9):1084-1089.
- [5] Zorzela L, Loke YK, Ioannidis JP, et al. PRISMA harms checklist: improving harms reporting in systematic reviews [J]. BMJ, 2016, 352, i157.
- [6] 简瑶.左氧氟沙星治疗耐多药肺结核疗效与安全性的系统评价[J].临床医药文献电子杂志,2014,1(5):51.
- [7] 李建齐.左氧氟沙星治疗耐多药肺结核疗效的系统评价[J].健康必读(中旬刊),2013,12(12):98.
- [8] 陈鹏.左氧氟沙星治疗耐多药肺结核疗效与安全性的系统评价[J].中外医学研究,2014,12(25):160-161.
- [9] 王倩,黄淑萍,张洁.国内应用含左氧氟沙星方案治疗耐多药结核的系统评价[J].天津药学,2008,20(3):77-78.
- [10] 王小虎,刘晓菊.莫西沙星与左氧氟沙星治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期疗效及安全性比较的系统评价[J].中国循证医学杂志,2012,12(6):694-699.
- [11] 王小玲,李红华.盐酸左氧氟沙星治疗难治性肺结核的临床疗效和安全性汇总分析[J].中国卫生产业,2014,11(19):40-41.
- [12] 谢根英,何拉结,吴荔嘉,等.莫西沙星与左氧氟沙星分别治疗慢性阻塞性肺疾病加重期疗效与安全性的系统评价[J].中国医院用药评价与分析,2013,13(7):594-598.
- [13] 杨立娟.含左氧氟沙星方案治疗复治肺结核临床疗效的 Meta 分析[J].中国防痨杂志,2009,31(7):415-419.
- [14] 余文韬,尹茜,吴斌,等.加替沙星对难治、耐多药肺结核有效性和安全性的 Meta 分析[J].中国药业,2011,20(14):17-21.
- [15] 张建旭,赵锋辉.国内卷曲霉素联合左氧氟沙星治疗耐药肺结核疗效和安全性的 meta 分析[J].中国临床研究,2012,25(6):539-542.
- [16] 赵冠人,马俊,冯端浩.含左氧氟沙星化疗方案治疗肺结核的系统评价[J].中国医院用药评价与分析,2011,11(12):1064-1068.
- [17] 费忠亭,陈震,唐瑶.左氧氟沙星治疗难治性肺结核咯血的有效性和安全性 meta 分析[J].中国生化药物杂志,2014,35(7):164-166.
- [18] 闫盈盈,易湛苗,翟所迪.国内医院药学人员系统评价/Meta 分析文献发表与质量研究[J].中国循证医学杂志,2012,12(1):92-97.
- [19] 侯政昆,李建生,余学庆,等.国内关于肺炎系统评价和 Meta 分析文献的质量评价[J].中国危重病急救医学,2009,21(4):207-210.
- [收稿日期] 2016-04-17 [修回日期] 2016-07-29
[本文编辑] 李睿旻

(上接第 536 页)

酸-乙酸乙酯-丁酮-水(1:5:3:1)为展开剂,展开后黄芩特征斑点清晰且易观察,专属性更强,阴性无干扰。在黄柏的薄层鉴别中,笔者曾使用苯-乙酸乙酯-异丙醇-甲醇-浓氨试液(6:3:1.5:1.5:0.5)作展开剂,但分离度差,特征斑点重合,而当使用乙酸乙酯-环己烷-甲醇-异丙醇-水-三乙胺(3.5:3:1.5:1:0.5:1)为展开剂时,分离度良好,阴性无干扰。柴胡的入药部位为根部,主含皂苷类物质,而本院用柴胡以地上部分入药,主含黄酮类物质(比如芦丁),因此,本标准以芦丁作为对照品,薄层鉴别斑点清晰,分离效果较好,阴性无干扰。

本实验曾对感冒颗粒的提取溶剂和提取时间进行考察,分别采用甲醇、50%乙醇溶液及乙醇3种不同溶剂同功率同时间提取,结果表明用甲醇提取效率最高,超声时间选择15、30、45 min进行考察,结果发现超声30、45 min效果优于15 min,较优两者间差异不明显。故本试验方法确定为在250 W超声功率下,选择甲醇作为提取溶剂,超声提取30 min。以本品3个批次平均测定含量的80%为标准,暂定本品含量限度为每袋含黄芩[以黄芩苷(C₂₁

H₁₈O₁₁)计],不得低于15.8 mg。

【参考文献】

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典2010年版一部[S].北京:中国医药科技出版社,2010附录VI B:34.
- [2] 江涛,雷健,邢茂,等.口炎清胶囊的质量控制和稳定性试验[J].中国药业,2014,23(11):17-20.
- [3] 黄晓巧,李养学,胥爱丽,等.复方红黄洗剂质量标准研究[J].江西中医药,2014,45(8):73-75.
- [4] 何小英,黄艳萍.胃肠乐片的质量标准研究[J].今日药学,2014,24(10):726-728.
- [5] 刘香玉,田民强,冯丽莉,等.复方解郁颗粒的质量标准研究[J].中国药师,2014,17(5):763-766.
- [6] 林海霞,王书林,王砚,等.HPLC测定竹叶柴胡中黄酮类成分的含量[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(15):76-79.
- [7] 刘红,刘辉,刘彬果.高效液相色谱法测定急麻颗粒中黄芩苷的含量[J].天津药学,2014,26(6):11-12.
- [8] 乡世健,翁立冬,黄德浩,等.HPLC测定小儿连番止泻颗粒中黄芩苷的含量[J].今日药学,2014,24(11):781-783.
- [9] 尹亚梅.HPLC法同时测定苓翘口服液黄芩苷、连翘苷的含量[J].中国药师,2014,17(11):1973-1975.

[收稿日期] 2015-07-30 [修回日期] 2016-04-28
[本文编辑] 陈静