

【 评价方法学 】

小儿化痰止咳颗粒特征图谱研究与质量评价

段营辉, 陈惠玲, 黄 澜, 朱樵苏, 李玲玲

厦门市食品药品质量检验研究院, 福建 厦门 361012

摘要: 目的 建立小儿化痰止咳颗粒的 HPLC 特征图谱, 考察其主要组成原料吐根酊的投料情况, 评价其质量。方法 采用高效液相色谱法, 色谱柱为 Inertsil ODS-SP (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 乙腈-0.4%磷酸溶液为流动相, 梯度洗脱, 体积流量为 1 mL/min, 检测波长 210 nm, 柱温 35℃。结果 建立了 41 个厂家 181 批样品的 HPLC 特征图谱, 确定其中来自原料盐酸麻黄碱、吐根酊和桑白皮流浸膏的 6 个特征色谱峰; 利用该特征图谱, 发现部分厂家存在投入不合格吐根酊原料的情况。结论 该方法建立的小儿化痰止咳颗粒 HPLC 特征图谱专属性强, 重复性好, 可有效的控制该产品的质量。

关键词: 小儿化痰止咳颗粒; HPLC 特征图谱; 吐根酊; 桑白皮; 质量评价

中图分类号: R917 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2016)05-0789-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2016.05.016

HPLC typical chromatogram and quality evaluation of Xiaoer Huatan Zhike Granule

DUAN Ying-hui, CHEN Hui-ling, HUANG Lan, ZHU Qiao-su, LI Ling-ling

Xiamen Institute for Food and Drug Quality Control, Xiamen 361012, China

Abstract: Objective To establish the HPLC typical chromatogram, investigate the input amounts of main crude material ipecac tincture, and evaluate the quality of Xiaoer Huatan Zhike Granule. **Methods** The HPLC typical chromatogram was performed on an Inertsil ODS-SP column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) with a gradient mobile phase of acetonitrile-0.4% phosphoric acid aqueous solution system at a flow rate of 1 mL/min. The detection wavelength was 210 nm and the column temperature was 35 °C. **Results** The HPLC typical chromatograms of 181 batches of samples from 41 manufacturers were obtained, in which six typical chromatographic peaks from ephedrine hydrochloride, ipecac tincture, and liquid extract of *Mori Cortex* were identified. And it was found that the unqualified materials of ipecac tincture were applied in some manufactures using the established HPLC typical chromatograms. **Conclusion** The established methods have high specificity and good repeatability, and can be used for the quality control of these products.

Key words: Xiaoer Huatan Zhike Granule; HPLC typical chromatogram; ipecac tincture; *Mori Cortex*; quality evaluation

小儿化痰止咳颗粒是由吐根酊、桑白皮流浸膏、桔梗流浸膏和盐酸麻黄碱制成的中西药复方制剂, 具有祛痰镇咳之功效, 临床用于治疗小儿肺热咳嗽、咳嗽等症^[1-3]。化学药品盐酸麻黄碱为一类精神药品, 国家管控严格, 文献也报道了较多对其含量测定方法^[4-7]; 桑白皮流浸膏、桔梗流浸膏分别来源于桑白皮和桔梗, 为常用中药材, 质量控制相对较好; 吐根酊由吐根药材提取精制而成, 吐根原料主要依赖进口, 国内外药材标准及其提取物标准均相对简

单^[8-10], 仅采用传统的酸碱滴定法, 测定其总碱含量。前期本课题组对 40 批的吐根酊研究发现, 市场上吐根酊价格差异大, 质量参差不齐, 甚至有用化学合成的吐根碱代替吐根酊使用。

小儿化痰止咳颗粒现行标准 (WS3-B1691-94) 中仅对盐酸麻黄碱和吐根酊进行了薄层鉴别, 个别企业的注册标准 (YBZ14452004、YBZ16712005、YBZ20202005) 对其中的盐酸麻黄碱含量进行了控制, 但整体上现行标准对制剂的控制水平较低, 薄

收稿日期: 2016-03-23

作者简介: 段营辉 (1983—), 男, 博士, 从事中药及中成药质量评价研究。Tel: 0592-5619842 E-mail: duanyh2005@163.com

层色谱法对吐根酊的鉴别也存在假阳性结果。本研究在前期对吐根酊 HPLC 特征图谱的研究基础上^[11], 进一步建立了 41 个厂家 181 批小儿化痰止咳颗粒的 HPLC 特征图谱, 对特征图谱上的主要色谱峰来源进行了归属, 对制剂中的原料, 特别是吐根酊的投料情况进行了分析, 发现 15 个厂家 42 批样品存在投入不合格吐根酊原料的情况。

1 仪器与试剂

日本岛津 Shimadzu 20-AD 高效液相色谱仪(包括四元泵、在线脱气机。自动进样器、柱温箱、DAD 检测器、2010 色谱工作站), 超声波清洗器。乙腈、甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 磷酸等试剂为分析纯。

盐酸麻黄碱(批号 171241-201007, 中国食品药品检定研究院), 吐根酊对照提取物(批号 610004-201401, 中国食品药品检定研究院)。小儿化痰止咳颗粒来源于全国 41 个生产厂家的共 181 批样品, 吐根酊、桑白皮流浸膏和桔梗流浸膏由部分厂家提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Inertsil ODS-SP (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈(B)-0.4%磷酸溶液(A), 梯度洗脱条件: 5% B→20% B (0~15 min), 20% B→30% B (15~25 min), 30% B→90% B (25~35 min), 90% B→100% B (35~45 min); 体积流量 1 mL/min; 柱温 35℃; 检测波长 210 nm; 进样量 10 μL。

2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品溶液的制备 称取盐酸麻黄碱对照品适量, 加甲醇制成 50 μg/mL 的对照品溶液; 精密量取吐根酊对照提取物溶液 3 mL, 加甲醇定容至 50 mL 量瓶中, 作为吐根酊对照提取物溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 小儿化痰止咳颗粒内容物研细, 取约 15 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理(功率 160 W, 频率 40 kHz) 30 min, 放冷, 静置, 滤过, 残渣加甲醇 20 mL 分次洗涤, 滤过, 合并滤液, 置水浴上蒸至近干, 残渣加甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 精密度试验 精密吸取同一份小儿化痰止咳颗粒供试品溶液 10 μL, 连续进样 6 次, 测定各主要色谱峰相对峰面积和相对保留时间的 RSD 分别小于 1.0%和 0.1%, 表明仪器精密度良好。

2.3.2 重复性试验 取同一批次小儿化痰止咳颗粒 6 份, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液。分别进样 10 μL, 测得供试品溶液各主要色谱峰相对峰面积和相对保留时间的 RSD 分别小于 5.0%和 0.5%, 表明重复性良好。

2.3.3 稳定性试验 精密吸取同一份供试品溶液, 分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样 10 μL, 测得供试品溶液各主要色谱峰相对峰面积和相对保留时间的 RSD 分别小于 1.0%和 0.1%, 表明样品溶液在 24 h 内稳定。

2.4 样品测定、特征图谱的建立及应用

2.4.1 样品测定及特征图谱的建立 实验测定 41 个厂家提供的 181 批小儿化痰止咳颗粒样品, 详细比较各样品的液相色谱图, 筛选出 6 个主要特征峰, 构成小儿化痰止咳颗粒的特征图谱(图 1)。通过与对照品和原料比较, 确认其中 1 号峰为盐酸麻黄碱; 2 号、3 号峰来源于桑白皮流浸膏; 4 号、5 号、6 号峰来源于吐根酊, 并指认它们分别为吐根酚碱、吐根碱和吐根苷。确定吐根碱峰为内参比峰(峰 5, S), 计算各特征峰与 S 峰的相对保留时间比值, 见表 1。

表 1 小儿化痰止咳颗粒特征图谱各特征峰相对保留时间

Table 1 Relative retention time of six peaks in typical chromatograms of Xiaoer Huatan Zhike Granule

编号	保留时间/min	相对保留时间	来源
1	12.51	0.53	盐酸麻黄碱*
2	17.27	0.74	桑白皮流浸膏
3	19.09	0.81	桑白皮流浸膏
4	19.72	0.84	吐根酊(吐根酚碱*)
5(S)	23.43	1.00	吐根酊(吐根碱*)
6	26.31	1.12	吐根酊(吐根苷*)

*-经对照品确认

*- Confirmed by reference

2.4.2 利用特征图谱考察吐根酊原料投料情况 根据前期对吐根酊原料特征图谱的研究, 比较各厂家小儿化痰止咳颗粒的特征图谱, 相对应也分为四类: 第一类完全不显示吐根酊中三个主要色谱峰, 有 7 个厂家共 19 个批号(典型图谱见图 2)。第二类仅显示吐根酊中一个主要色谱峰(峰 5, 吐根碱峰), 有 3 个厂家共 9 个批号(典型图谱见图 3)。第三类虽显示吐根酊中 3 个主要色谱峰, 但 3 个色谱峰含量明显降低, 而在保留时间 30.11、32.40 min 处显示两个色谱峰, 有 5 个厂家共 14 个批号(典型图谱见图 4)。第四类显示吐根酊中 3 个主要色谱峰, 且 3 个主要色谱峰含量相对较高(典型图谱见图 5)。

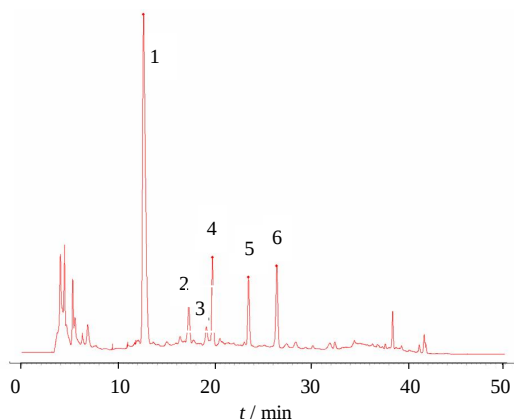


图1 小儿化痰止咳颗粒对照特征图谱 (共有模式)

Fig. 1 Standard typical chromatograms of Xiaoer Huatan Zhike Granule (mutual model)

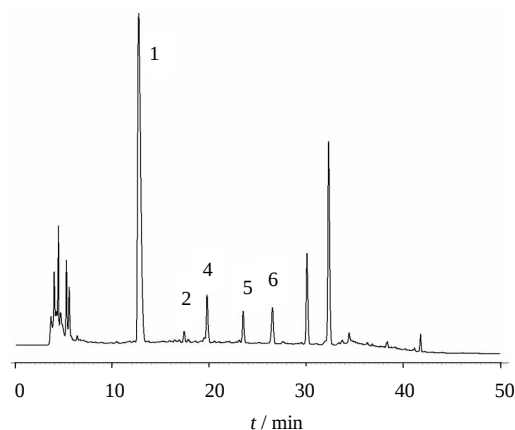


图4 第3类小儿化痰止咳颗粒 HPLC 特征图谱图

Fig. 4 3rd typical chromatograms of Xiaoer Huatan Zhike Granule

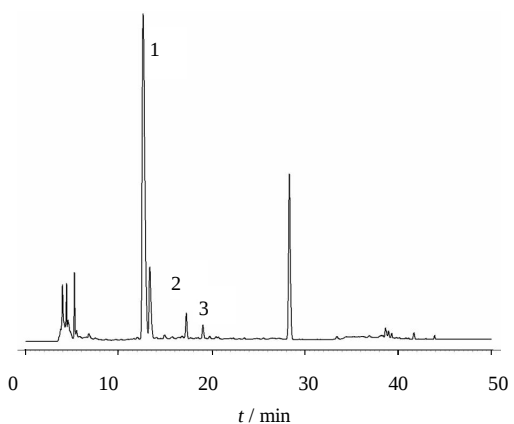


图2 第1类小儿化痰止咳颗粒 HPLC 特征图谱

Fig. 2 1st typical chromatogram of Xiaoer Huatan Zhike Granule

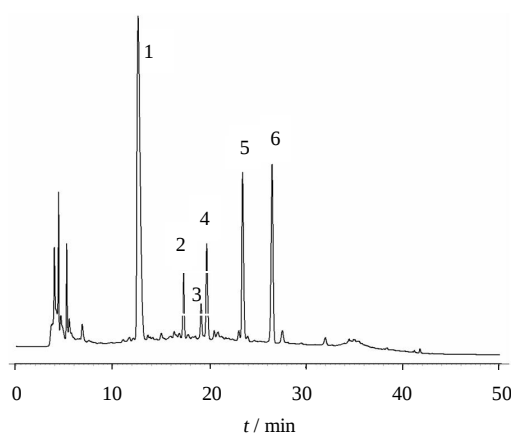


图5 第4类小儿化痰止咳颗粒 HPLC 特征图谱

Fig. 5 4th typical chromatograms of Xiaoer Huatan Zhike Granule

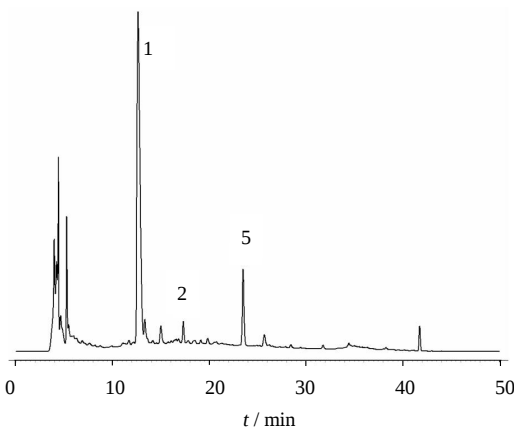


图3 第2类小儿化痰止咳颗粒 HPLC 特征图谱

Fig. 3 2nd typical chromatogram of Xiaoer Huatan Zhike Granule

3 讨论

3.1 盐酸麻黄碱、桔梗投料分析

小儿化痰止咳颗粒特征图谱上, 各厂家的所有样品均明显检出盐酸麻黄碱峰, 提示均有投料, 这也与前期调研的情况相符。桔梗流浸膏中富含桔梗皂苷类成分, 多采用蒸发光散射 (ELSD) 检测, 文献^[12]也有报道桔梗药材在紫外灯 (210 nm) 下的 HPLC 特征图谱。但由于小儿化痰止咳颗粒中含桔梗流浸膏原料很少 (相当含桔梗药材量为 1%), 因此, 在此条件下, 暂未显示桔梗流浸膏中的色谱峰。

3.2 桑白皮投料分析

通过与各厂家提供的桑白皮流浸膏特征图谱进行比较, 确认色谱峰 2、峰 3 来源于桑白皮流浸膏。在小儿化痰止咳颗粒特征图谱中, 能够稳定而明显

地出现色谱峰2和峰3的有21个厂家81批,提示这些厂家在桑白皮药材的选购和提取制备工艺方面有较好的控制。其他厂家则不能全部检出这2个色谱峰。

3.3 吐根酞投料分析

综合前期研究,可以判断41个厂家181批样品中,26个厂家的139批样品具有第4类特征图谱特点,即均明显检出吐根酚碱、吐根碱和吐根苷3个色谱峰,提示投入了合格的吐根酞原料。另外,15个厂家的42批样品则显示其他3类特征图谱的特点,提示投入了不合格的劣质吐根酞原料。

3.4 小儿化痰止咳颗粒质量分析

吐根酞是本产品的主要原料之一,同时结合桑白皮原料的分析情况,判断共23个厂家100批小儿化痰止咳颗粒存在不合格投料的情况,不合格企业占56.1%,不合格批数占55.2%。总体而言,小儿化痰止咳颗粒的质量亟需提高。

3.5 小儿化痰止咳颗粒标准修订建议

现行小儿化痰止咳颗粒的标准项目设置简单,且各生产企业标准间缺乏统一性;且部分检测项目存在假阳性,如薄层色谱鉴别吐根酞,样品在薄层色谱上与吐根酞对照提取物斑点一致,但HPLC谱显示如图2,并没有吐根酞投料。因此,亟需对其标准进行提高和修订,建议增设吐根酞的HPLC鉴别方法,统一盐酸麻黄碱的含量限度,增加吐根生

物碱类的含量测定项目。

参考文献

- [1] 中药成方制剂 [S]. 第9册. 1994.
- [2] 姜秀凤. 小儿化痰止咳颗粒药理分析与临床应用 [J]. 中国实用医药, 2015, 10(16): 197-198.
- [3] 龚明. 小儿化痰止咳颗粒治疗小儿支气管炎 51例 [J]. 中国药业, 2015, 24(10): 102-103.
- [4] 韩桂茹, 王岳峰, 封淑华, 等. 小儿化痰止咳颗粒中3种生物碱的同时定量测定 [J]. 中成药, 2013, 35(7): 1457-1461.
- [5] 邓志坚. HPLC法测定小儿化痰止咳颗粒中盐酸麻黄碱的含量 [J]. 广西中医学院学报, 2010, 13(4): 50-52.
- [6] 郭德铭, 蒋琼, 陈波. HPLC测定小儿化痰止咳颗粒中的盐酸麻黄碱 [J]. 华西药学杂志, 2008, 23(5): 598-599.
- [7] 周征, 魏京京. HPLC法测定小儿化痰止咳冲剂中盐酸麻黄碱的含量 [J]. 药物分析杂志, 2006, 26(1): 132-133.
- [8] 欧洲药典 [S]. 7.0. 2009.
- [9] 美国药典 [S]. 35. 2011.
- [10] 化学药品地标升国标 [S]. 第15册, 2003.
- [11] 段营辉, 陈惠玲, 黄澜, 等. 吐根酞特征图谱研究与质量评价方法建立 [J]. 药物分析杂志, 2015, 35(6): 1122-1126.
- [12] 李喜凤, 郝哲, 刘素梅, 等. 不同采收期桔梗 HPLC指纹图谱比较研究 [J]. 中成药, 2010, 32(3): 529-532.