

补肺颗粒质量控制研究

刘淑¹, 闫晓楠^{2*}, 袁婷婷¹

1. 天津中新药业集团股份有限公司达仁堂制药厂, 天津 300457

2. 天津中新药业集团股份有限公司药物研究院, 天津 300457

摘要: 目的 通过对补肺颗粒进行薄层色谱(TLC)鉴别、含量测定等定性与定量研究, 建立科学合理的补肺颗粒质量控制方法。方法 依据处方中各药味的主要化学成分, 应用 TLC 法对其处方中山茱萸肉、蜜麻黄、赤芍、黄芩、陈皮、甘草进行了定性分析; 应用 HPLC 法测定了补肺颗粒中马钱苷、黄芩苷的含量, 并进行了方法学研究, 其中马钱苷采用 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相为乙腈-甲醇-水-甲酸(10:1:89:0.1), 检测波长为 236 nm; 黄芩苷采用 Dikma Diamonsil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相为甲醇-水-甲酸(49:51:0.1), 检测波长为 280 nm。结果 TLC 鉴别方法能特征地鉴别蜜麻黄、赤芍、黄芩、陈皮、甘草, 各斑点清晰, 阴性无干扰, 分离度良好, 专属性强。以马钱苷、黄芩苷为指标成分进行方法学研究, 马钱苷平均回收率为 98.49%, RSD 为 0.80%; 重复性试验 RSD 为 0.83%, 符合要求; 线性范围在 4.76~50.70 μg/mL, 线性关系良好($r=0.9999$)。黄芩苷平均回收率为 101.20%, RSD 为 0.77%; 重复性试验 RSD 为 0.90%, 符合要求; 线性范围在 6.00~96.00 μg/mL, 线性关系良好($r=0.9999$)。3 批样品(批号 001、002、003)中马钱苷的含量测定结果分别为 12.04、9.78、11.81 mg/袋; 黄芩苷的含量测定结果分别为 121.13、101.31、103.14 mg/袋。结论 该方法易于操作, 专属性强, 准确灵敏, 重复性好, 可用于补肺颗粒的质量控制。

关键词: 补肺颗粒; 质量控制; 马钱苷; 黄芩苷; 薄层色谱; HPLC

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)16-4201-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.16.013

Quality standard of Bufei Granules

LIU Shu¹, YAN Xiao-nan², YUAN Ting-ting¹

1. Darentang Pharmaceutical Factory, Tianjin Zhongxin Pharmaceutical Group Co., Ltd., Tianjin 300457, China

2. Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin Zhongxin Pharmaceutical Group Co., Ltd., Tianjin 300457, China

Abstract: Objective To establish a scientific and reasonable quality control method of Bufei Granules through the qualitative and quantitative research of thin layer identification and content determination of Bufei Granules. **Methods** Based on the main chemical constituents of each drug in Bufei Granules, TLC method was used to analyze *Corni Fructus*, *Ephedrae Herba*, *Paeoniae Radix Rubra*, *Scutellariae Radix*, *Citri Reticulatae Pericarpium*, and *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*; HPLC was used to determine the content of loganin and baicalin. The content of loganin was analyzed by Agilent Eclipse XDB-C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with the mobile phase of acetonitrile-methanol-water-formic acid (10:1:89:0.1). The detection wavelength was set at 236 nm; The content of baicalin was analyzed by Dikma Diamonsil C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with the mobile phase of methanol-water-formic acid (49:51:0.1). The detection wavelength was set at 280 nm. **Results** The TLC identification method can distinguish *Ephedrae Herba*, *Paeoniae Radix Rubra*, *Scutellariae Radix*, *Citri Reticulatae Pericarpium*, and *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* with clear spots, no negative interference, good separation and strong specificity. Loganin and baicalin were used as index components in methodological study. The average recovery of loganin was 98.49% and the RSD was 0.80%; The repeatability test RSD was 0.83% which met the requirement. The linear range was from 4.76 μg/mL to 50.70 μg/mL and the linear relationship was good ($r=0.9999$). The average recovery of baicalin rate was 101.20% and the RSD was 0.77%. The repeatability test RSD was 0.90%, which met the requirements. The linear range was from 6.00 μg/mL to 96.00 μg/mL and the linear relationship was good ($r=0.9999$). The loganin

收稿日期: 2020-04-14

基金项目: 国家科技重大新药创制专项(2017ZX09301023); 天津市科技计划项目新药创制科技重大专项(15ZXZYSY00060)

作者简介: 刘淑(1975—), 女, 本科, 从事中药新药研究。Tel: (022)60123751 E-mail: yys@darentang.com.cn

*通信作者 闫晓楠(1980—), 女, 硕士, 从事药物分析研究。Tel: (022)25295014 E-mail: yanxiaonan@zx-innova.com

content of three batches of samples was 12.04, 9.78 and 11.81 mg/bag; And the content determination result of baicalin was 121.13, 101.31 and 103.14 mg/bag. **Conclusion** The method is easy to operate, strong in specificity, accurate and sensitive, with good repeatability. It can be applied for the quality control of BuFei Granules.

Key words: BuFei Granules; quality control; loganin; baicalin; TLC; HPLC

补肺颗粒由党参、熟地黄、山萸肉、蜜麻黄、当归、赤芍、黄芩、陈皮、蜜紫菀、甘草组成,具有补肺健脾益肾、祛瘀化痰平喘的功效。适用于咳嗽,喘息,气短、动则加重,乏力,易感冒;慢性肺阻塞性疾病稳定期见上述证候者^[1]。其组方由唐代孙思邈《备急千金要方》补肺汤和《景岳全书·新方八阵》金水六君煎化裁而来,原为天津中医药大学第二附属医院制剂^[2]。

本研究建立了蜜麻黄、赤芍、黄芩、陈皮、甘草的薄层色谱(TLC)鉴别方法和补肺颗粒中指标成分马钱苷、黄芩苷的HPLC法测定方法,为其临床应用安全提供保障。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

1200 Series 高效液相色谱仪、1200 Series G1314B 型紫外检测器、1200 Series G1329A 型自动进样器、515 型 HPLC 泵、717 型自动进样器、2487 型紫外检测器,美国 Waters 公司; BP211D 电子天平,瑞士 Sartorius 公司; HU10260B 型超声仪,天津恒奥科技有限公司; DH-201 型电热恒温干燥箱,天津中环实验电炉有限公司; WFH-201B 型紫外透射反射仪,上海精科实业有限公司。

1.2 试剂及药品

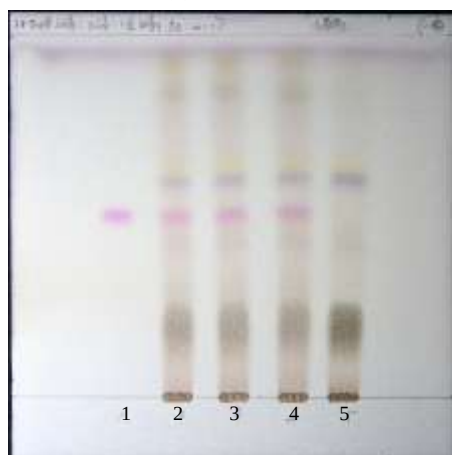
对照品马钱苷(批号 111640-200604,质量分数 99.9%)、黄芩苷(批号 110715-200815,质量分数 98.5%)、盐酸麻黄碱(批号 171241-200506,质量分数≥98%)、芍药苷(批号 110736-200934,质量分数 95.7%)、橙皮苷(批号 110721-200613,质量分数≥98%)、甘草苷(批号 111610-200604,质量分数≥98%),对照药材黄芩(批号 120955-201008)、赤芍(批号 121093-200402)、陈皮(批号 120969-200808)、甘草(批号 120904-200914),均购自中国食品药品检定研究院;补肺颗粒,批号 001、002、003,由天津中新药业集团股份有限公司达仁堂制药厂自制;硅胶 G 板,批号 20100525,青岛海洋化工厂分厂;聚酰胺薄膜,批号 20100911,浙江省台州市路桥四甲生化塑料厂;乙腈、甲醇为色谱纯,德国默克公司;水为纯水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 薄层鉴别

2.1.1 山萸肉的 TLC 法鉴别 参照《中国药典》2015 年版一部^[3]“山茱萸”鉴别项下的方法进行试验。马钱苷为山茱萸的主要成分,同时也是该药味药典标准的含量测定指标,以马钱苷作为对照品,对补肺颗粒中山萸肉进行薄层鉴别。取本品 5 g,研细,加无水乙醇 30 mL,超声处理 15 min,滤过,滤液蒸干残渣加无水乙醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。按处方取除山萸肉之外的其他 9 味药材,照补肺颗粒制备工艺,按供试品溶液制备方法制备山萸肉阴性对照溶液。另取马钱苷对照品,加无水乙醇制成 1 mg/mL 的溶液,作为对照品溶液。照 TLC 法(《中国药典》2015 年版一部附录 VIB)试验,吸取上述 3 种溶液各 4 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以醋酸乙酯-乙醇-冰醋酸(50:10:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5%香草醛硫酸溶液,在 105℃加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照品溶液色谱相应的位置上,样品溶液显相同的紫红色斑点,且山萸肉阴性对照溶液显示无干扰。见图 1。

2.1.2 蜜麻黄的 TLC 法鉴别^[4] 取本品 20 g,研细,加浓氨试液适量,将样品润湿,再加乙醚 60 mL,



1-马钱苷对照品 2~4-补肺颗粒供试品(批号 001、002、003)
5-缺山萸肉阴性样品
1-loganin reference substance 2~4-BuFei Granules (Batch No. 001, No. 002, No. 003) 5-negative sample without Corni Fructus

图 1 补肺颗粒中山萸肉 TLC 图

Fig. 1 TLC of Corni Fructus in BuFei Granules

超声处理 1 h, 滤过, 滤液加盐酸乙醇(1→20)1 mL, 混匀, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。按处方取除蜜麻黄之外的其他 9 味药材, 照补肺颗粒制备工艺, 按供试品溶液制备方法制备蜜麻黄阴性对照溶液。另取盐酸麻黄碱对照品, 加甲醇制成 1 mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。照 TLC 法(《中国药典》2015 年版一部附录 VIB)试验, 吸取供试品溶液 10 μ L、对照品溶液 1 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-甲醇-浓氨试液(20:3.5:0.5)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以印三酮试液, 在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同的红色斑点, 且蜜麻黄阴性对照溶液显示无干扰。见图 2。



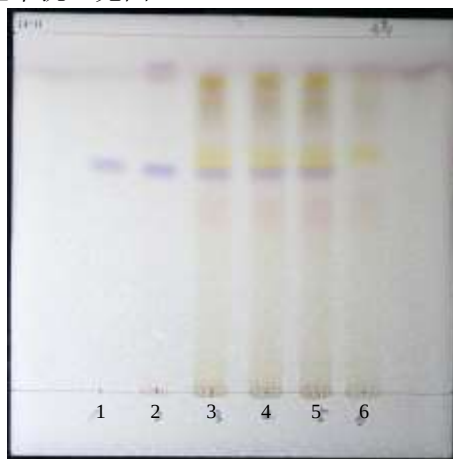
1-盐酸麻黄碱对照品 2~4-补肺颗粒供试品(批号 001、002、003)
5-缺蜜麻黄阴性样品
1-ephedrine hydrochloride reference substance 2—4-BuFei Granules (Batch No. 001, No. 002, No. 003) 5-negative sample without Ephedrae Herba

图 2 补肺颗粒中蜜麻黄 TLC 图

Fig. 2 TLC of *Ephedrae Herba* in Bufe Granules

2.1.3 赤芍的 TLC 法鉴别^[5] 取本品 5 g, 研细, 加乙醇 20 mL, 超声处理 10 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 20 mL 使溶解, 用水饱和正丁醇提取 3 次, 每次 20 mL, 合并正丁醇液, 用水洗涤 3 次, 每次 20 mL, 弃去水液, 正丁醇液蒸干, 残渣加乙醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。按处方取除赤芍之外的其他 9 味药材, 照补肺颗粒制备工艺, 按供试品溶液制备方法制备赤芍阴性对照溶液。另取赤芍对照药材 0.5 g, 同法制成对照药材溶液。再取芍药苷对照品, 加乙醇制成 2 mg/mL 溶液, 作为对照品溶液。照 TLC 法(《中国药典》2015 年版一部附录 VIB)试验, 吸取上述 3 种溶液各 4 μ L, 分别点于同一硅

胶 G 薄层板上, 以醋酸乙酯-乙醇-冰醋酸-水(50:10:1:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 香草醛硫酸溶液, 在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照品和对照药材色谱相应的位置上, 显相同的紫色斑点。且赤芍阴性对照溶液显示无干扰。见图 3。



1-芍药苷对照品 2-赤芍对照药材 3~5-补肺颗粒供试品(批号 001、002、003) 6-缺赤芍阴性样品
1-paeoniflorin reference substance 2-Paeoniae Radix Rubra reference material 3—5-BuFei Granules (Batch No. 001, No. 002, No. 003) 6-negative sample without Paeoniae Radix Rubra

图 3 补肺颗粒中赤芍 TLC 图

Fig. 3 TLC of *Paeoniae Radix Rubra* in Bufe Granules

2.1.4 黄芩的 TLC 法鉴别^[6] 取本品 6 g, 研细, 加甲醇 30 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加 15 mL 水溶解, 用盐酸调 pH 值至 2~3, 用醋酸乙酯提取 2 次, 每次 30 mL, 合并醋酸乙酯液, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取黄芩对照药材 0.5 g, 同法制成对照药材溶液。按处方取除黄芩之外的其他 9 味药材, 照补肺颗粒制备工艺, 按供试品溶液制备方法制备黄芩阴性对照溶液。再取黄芩苷对照品, 加甲醇制成 1 mg/mL 溶液, 作为对照品溶液。照 TLC 法(《中国药典》2015 年版一部附录 VIB)试验, 吸取上述 3 种溶液各 2 μ L, 分别点于同一聚酰胺板上, 以乙酸-水(10:0.9)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 2% 三氯化铁乙醇溶液, 日光下检视。供试品色谱中, 在与对照品和对照药材色谱相应的位置上, 显相同的暗绿色斑点。且黄芩阴性对照溶液显示无干扰。见图 4。

2.1.5 陈皮的 TLC 法鉴别^[7] 取本品 5 g, 研细, 加甲醇 30 mL, 加热回流 20 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 2 mL 使溶解, 作为供试品溶液。



1-黄芩苷对照品 2-黄芩对照药材 3~5-补肺颗粒供试品 (批号 001、002、003) 6-缺黄芩阴性样品
1-baicalin reference substance 2-*Scutellariae Radix* reference material 3-5-BuFei Granules (Batch No. 001, No. 002, No. 003) 6-negative sample without *Scutellariae Radix*

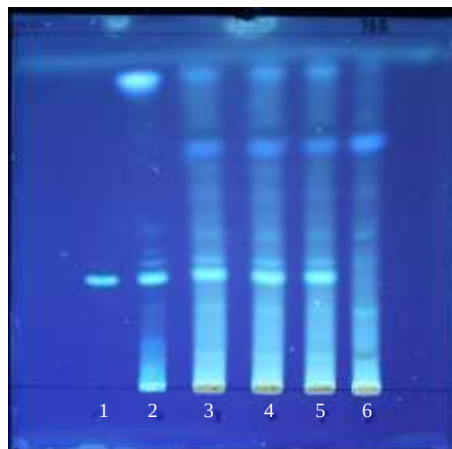
图 4 补肺颗粒中黄芩 TLC 图

Fig. 4 TLC of *Scutellariae Radix* in BuFei Granules

按处方取除陈皮之外的其他 9 味药材, 照补肺颗粒制备工艺, 按供试品溶液制备方法制备陈皮阴性对照溶液。另取陈皮对照药材 0.5 g, 同法制成对照药材溶液。再取橙皮苷对照品, 加甲醇制成饱和溶液, 作为对照品溶液。照 TLC 法 (《中国药典》2015 年版一部附录 VIB) 试验, 吸取上述 3 种溶液各 2 μ L, 分别点于同一用 1% 氢氧化钠溶液制备的硅胶 G 薄层板上, 以醋酸乙酯-甲醇-水 (100:17:13) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以三氯化铝试液, 置紫外光灯 (365 nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照品和对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点, 且陈皮阴性对照溶液显示无干扰。见图 5。

2.1.6 甘草的 TLC 法鉴别 取本品 10 g, 研细, 加乙醚 50 mL, 加热回流 1 h, 滤过, 弃去乙醚液, 药渣加甲醇 50 mL, 加热回流 1 h, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加 20 mL 水溶解, 用正丁醇提取 3 次, 每次 20 mL, 合并正丁醇液, 用水洗涤 3 次, 每次 20 mL, 弃去水液, 正丁醇液蒸干, 残渣加甲醇 2 mL 使溶解, 作为供试品溶液。按处方取除甘草之外的其他 9 味药材, 照补肺颗粒制备工艺, 按供试品溶液制备方法制备甘草阴性对照溶液。另取甘草对照药材 0.5 g, 同法制成对照药材溶液。再取甘草苷对照品, 加甲醇制成 1 mg/mL 溶液, 作为对照品溶液。照 TLC 法 (《中国药典》2015 年版一部附录 VIB) 试验, 吸取上述 3 种溶液各 2 μ L, 分别点于同一用 1%

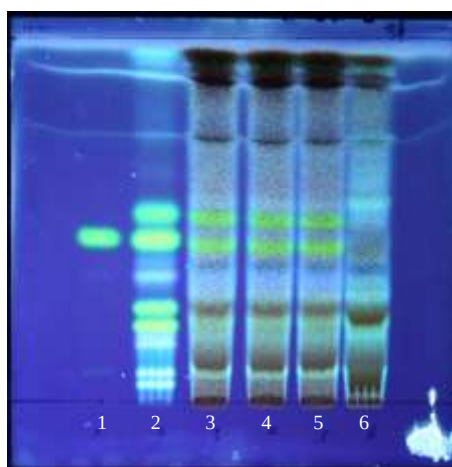
氢氧化钠溶液制备的硅胶 G 薄层板上, 以醋酸乙酯-甲酸-冰醋酸-水 (15:1:1:2) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰, 置紫外光灯 (365 nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照品及对照药材色谱相应的位置上, 显相同橙黄色荧光斑点, 且甘草阴性对照溶液显示无干扰。见图 6。



1-橙皮苷对照品 2-陈皮对照药材 3~5-补肺颗粒供试品 (批号 001、002、003) 6-缺陈皮阴性样品
1-hesperidin reference substance 2-*Citri Reticulatae Pericarpium* reference material 3-5-BuFei Granules (Batch No. 001, No. 002, No. 003) 6-negative sample without *Citri Reticulatae Pericarpium*

图 5 补肺颗粒中陈皮 TLC 图

Fig. 5 TLC of *Citri Reticulatae Pericarpium* in BuFei Granules



1-甘草苷对照品 2-甘草对照药材 3~5-补肺颗粒供试品 (批号 001、002、003) 6-缺甘草阴性样品
1-liquiritin reference substance 2-*Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* reference material 3-5-BuFei Granules (Batch No. 001, No. 002, No. 003) 6-negative sample without *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*

图 6 补肺颗粒中陈皮 TLC 图

Fig. 6 TLC of *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* in BuFei Granules

2.2 马钱苷的含量测定^[8]

2.2.1 色谱条件及系统适应性 流动相为乙腈-甲醇-水-甲酸 (10:1:89:0.1); 检测波长 236 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 色谱柱为 Agilent Eclipse XDB-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 柱温 30 ℃。高效液相色谱仪检测, 理论板数按马钱苷峰计算应不低于 8 000。

2.2.2 对照品溶液的制备 取马钱苷对照品适量, 精密称定, 加水制成 10 μg/mL 的溶液, 即得对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品, 研细, 混匀, 取约 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加水

50 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 30 min, 放冷, 再称定质量, 用水补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。

2.2.4 阴性对照液的制备 按处方和工艺制备不含山莼肉的样品, 按供试品制备方法制备阴性对照液。

2.2.5 专属性试验 精密吸取上述对照品溶液、供试品溶液以及阴性对照液, 按照“2.2.1”项色谱条件分别进样 10 μL, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 结果见图 7。结果表明, 供试品色谱中与对照品色谱上相同保留时间有对应的色谱峰, 峰形良好。阴性样品色谱中, 在相同的保留时间无色谱峰, 说明本方法专属性好, 阴性无干扰。

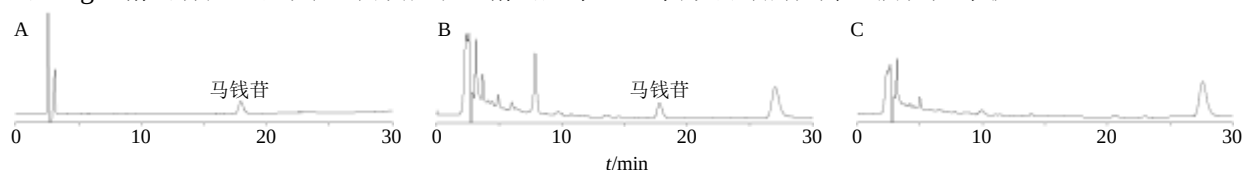


图 7 马钱苷对照品 (A)、补肺颗粒供试品 (批号 001, B) 和山莼肉阴性样品 (C)

Fig. 7 Loganin reference substance (A), BuFei Granules (Batch No. 001, B), and negative sample without *Corni Fructus* (C)

2.2.6 线性关系考察 精密称取马钱苷对照品适量, 制成质量分数为 101.4 μg/mL 的对照品储备液。分别精密量取质量浓度为 101.4 μg/mL 对照品储备液, 配制成质量浓度分别为 50.70、20.28、10.14、8.10、4.06 μg/mL 的系列对照品溶液。取上述对照品储备液及对照品溶液各 10 μL, 按“2.2.1”项色谱条件注入液相色谱仪, 测定峰面积, 对马钱苷峰面积与进样量进行线性回归处理; 以马钱苷进样量为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 进行线性回归, 得回归方程 $Y=830\,451X-4\,586.4$, $r=0.999\,9$, 试验结果表明, 马钱苷在进样量 0.040 6~1.014 0 μg 呈良好的线性关系。

2.2.7 重复性试验 取本品 (批号 001) 1 g, 按照“2.2.3”项方法平行制备供试品溶液 6 份, 进行测定, 计算马钱苷含量及其 RSD。试验结果表明, 各份补肺颗粒中马钱苷平均含量为 12.04 mg/袋, 重复性试验 RSD 为 0.83%, 符合要求。

2.2.8 精密度试验 取本品 (批号 001) 1 g, 按照“2.2.3”项方法制备供试品溶液。精密吸取供试品溶液 10 μL 注入液相色谱仪, 重复测定 6 次, 记录峰面积, 计算 RSD。结果 RSD 为 0.78%, 符合要求。

2.2.9 稳定性试验 取本品 (批号 001) 1 g, 按照“2.2.3”项方法制备供试品溶液。分别在制备后 0、1、2、3、4、8、12h 精密吸取供试品溶液 10 μL 注入液相色谱仪进行测定, 结果马钱苷峰面积的 RSD

为 1.05%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.2.10 加样回收率试验 取本品 (批号 001) 约 0.5 g, 平行 6 份, 置具塞锥形瓶中, 精密加入马钱苷对照品溶液 (相当于补肺颗粒中马钱苷含量的 50%), 按照“2.2.3”项方法进行处理, 高效液相色谱仪测定, 结果表明, 加样回收率的平均值为 98.49%, RSD 为 0.80%, 证明该方法准确度良好。

2.2.11 耐用性试验 取本品 (批号 001) 约 1 g, 按照“2.2.3”项方法进行处理, 使用不同的十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂的色谱柱进行含量测定。试验结果可见, 使用不同品牌不同填料的色谱柱 Dikma Diamonsil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Agilent Zorbax SB-AQ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Agilent Eclipse XDB-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 进行测试, 测定结果峰型和分离度良好, 基本不受影响, 本方法耐用性良好。

2.2.12 样品中马钱苷的含量测定 取 3 批样品 (批号 001、002、003) 约 1 g, 每批 2 份, 分别按照“2.2.3”项方法进行处理, 按照“2.2.1”项色谱条件进行测定, 计算 3 批样品中马钱苷的含量。结果分别为 12.04、9.78、11.81 mg/袋 ($n=2$)。

2.3 黄芩苷的含量测定^[9]

2.3.1 色谱条件及系统适应性 流动相为甲醇-水-甲酸 (49:51:0.1); 检测波长 280 nm; 体积流量 1.0 mL/min; 色谱柱为 Dikma Diamonsil C₁₈ (250

mm×4.6 mm, 5 μm); 柱温 30 ℃。理论板数按黄芩苷峰计算应不低于 5 000。

2.3.2 对照品溶液的制备 取黄芩苷对照品适量, 精密称定, 加 50%乙醇制成 50 μg/mL 的溶液, 即得对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 取本品, 研细, 混匀, 取约 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加 50%乙醇 50 mL, 称定质量, 加热回流 30 min, 放冷, 再称定质量, 用 50%乙醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。

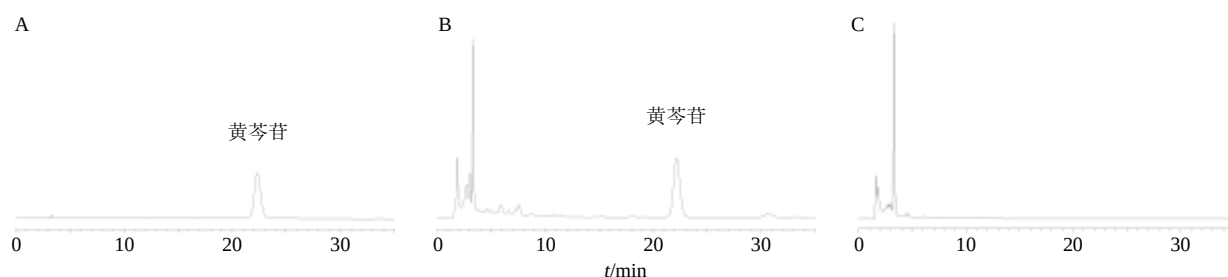


图8 黄芩苷对照品 (A)、补肺颗粒供试品 (批号 001, B) 和黄芩阴性样品 (C)

Fig. 8 Baicalin reference substance (A), BuFei Granules (Batch No. 001, B), and negative sample without *Scutellariae Radix* (C)

mg, 置 50 mL 量瓶中, 加 50%乙醇至刻度, 得到 0.192 mg/mL 的对照品储备液。分别精密量取对照品储备液, 配制质量浓度分别为 0.096、0.048、0.024、0.012、0.006 mg/mL 的系列对照品溶液。取上述对照品储备液及对照品溶液各 10 μL, 按“2.3.1”项色谱条件, 注入液相色谱仪, 测定峰面积。对黄芩苷峰面积与进样量进行线性回归处理, 以黄芩苷进样量为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 得回归方程 $Y=3\,250.3 X+18.515$, $r=0.999\,9$, 试验结果表明, 黄芩苷在进样量 0.06~1.92 μg 时呈良好的线性关系。

2.3.7 重复性试验 取本品 (批号 001) 约 1 g, 按照“2.3.3”项方法平行制备供试品溶液 6 份, 按“2.3.1”项色谱条件, 精密吸取对照品溶液 5 μL、供试品溶液 10 μL 注入液相色谱仪, 计算黄芩苷含量及其 RSD。试验结果表明, 各份补肺颗粒中黄芩苷平均含量为 122.64 mg/袋、RSD 为 0.90%, 符合要求。

2.3.8 精密度试验 取本品 (批号 001) 约 1 g, 按照“2.3.3”项方法制备供试品溶液, 精密吸取供试品溶液 10 μL 注入液相色谱仪, 重复测定 6 次, 记录峰面积。结果 RSD 为 0.52%, 符合要求。

2.3.9 稳定性试验 取本品 (批号 001) 1 g, 按照

2.3.4 阴性对照液的制备 按处方和工艺制备不含黄芩的样品, 按供试品制备方法制备。

2.3.5 专属性试验 精密吸取上述对照品溶液 10 μL、供试品溶液以及阴性对照液 5 μL, 照“2.3.1”项色谱条件进行测定, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 结果见图 8。结果表明, 供试品色谱中与对照品色谱上相同保留时间有对应的色谱峰, 峰形良好。阴性样品色谱中, 在相同的保留时间无色谱峰, 说明本方法专属性好, 阴性无干扰。

2.3.6 线性关系考察 精密称取黄芩苷对照品 9.60

“2.3.3”项方法制备供试品溶液。分别在制备后第 0、2、4、6、8、10、12 小时精密吸取供试品溶液 10 μL 注入液相色谱仪测定, 黄芩苷峰面积的 RSD 为 0.15%。表明供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.3.10 加样回收率试验 取本品 (批号 001) 约 0.5 g 平行 6 份, 置具塞锥形瓶中, 精密加入黄芩苷对照品溶液 (相当于补肺颗粒中黄芩苷含量的 50%), 按照“2.3.3”项方法进行处理。精密吸取对照品溶液 5 μL、供试品溶液 10 μL 注入液相色谱仪测定, 结果表明, 回收率的平均值为 101.20%, RSD 为 0.77%, 证明该方法准确度良好, 符合要求。

2.3.11 耐用性试验 取本品 (批号 001) 约 1 g, 按照“2.3.3”项方法进行处理, 使用不同的十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂的色谱柱, 精密吸取对照品溶液 5 μL、供试品溶液 10 μL 注入液相色谱仪进行含量测定。试验结果可见, 使用不同品牌不同填料的色谱柱 Dikma Diamonsil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Agilent Eclipse XDB-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)、Agilent Extend-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 进行测试, 测定结果峰型和分离度良好, 基本不受影响, 本方法耐用性良好。

2.3.12 样品中黄芩苷的含量测定 取 3 批样品 (批号 001、002、003) 约 1 g, 每批 2 份, 分别按照“2.3.3”

项方法进行处理,按照“2.3.1”项色谱条件,精密吸取对照品溶液 5 μ L、供试品溶液 10 μ L 进行注入液相色谱仪测定,计算 3 批样品中黄芩苷的含量。结果分别为 121.13、101.31、103.14 mg/袋 ($n=2$)。

3 讨论

本研究参照《中国药典》2015 年版,采用 TLC 法对山萸肉蜜麻黄、赤芍、黄芩、陈皮、甘草进行了方法建立与优化,全方位的保证了补肺颗粒的质量控制。其中马钱苷为山萸肉中主要成分,同时也是该药味药典标准的含量测定指标;麻黄中含有大量生物碱类成分,其中最主要的成分为盐酸麻黄碱,在碱性条件下,大多以游离形式存在,可以被有机溶剂提取出来。根据该原理,以盐酸麻黄碱作为对照品对蜜麻黄进行薄层鉴别;芍药苷为赤芍中主要成分,同时也是该药味药典标准中的含量测定指标,故选择芍药苷及赤芍对照药材作为对照品,对赤芍进行薄层鉴别。并参考对药典“八珍丸”“归芍地黄丸”等品种鉴别项下的方法对前处理进行改进,增加萃取步骤,除去杂质,使斑点清晰,分离良好;黄芩苷为黄芩中主要成分,同时也是该药味药典标准中的含量测定指标;橙皮苷为陈皮中主要成分,选择橙皮苷、陈皮对照药材作为对照品,对陈皮进行薄层鉴别。橙皮苷对照品溶解性较差,参照药典方法配制成饱和溶液使用;甘草苷为甘草中主要成分,同时也是该药味药典标准中的含量测定指标,故选择甘草苷、甘草对照药材作为对照品,对甘草进行薄层鉴别。

在本方中山萸肉用量较大为臣药,马钱苷是山

萸肉中主要药效成分,因此建立了马钱苷的含量测定方法;黄芩在处方中所占比例超过 10%,黄芩苷为黄芩中主要成分。药材前处理中杀酶工序如进行不良、提取时间不足等均会直接影响黄芩苷的转移率,从而影响本产品的质量,因此黄芩苷是能够反映本品工艺水平的适合的指标成分,同时也是有效成分,为更好地控制产品质量,故拟同时建立补肺颗粒中黄芩苷的含量测定方法,并对分析方法进行验证。

参考文献

- [1] 孙增涛,付敏,李月川,等.补肺颗粒对慢性阻塞性肺疾病稳定期患者生活质量的影响[J].中医杂志,2012,53(11):930-932.
- [2] 林启焰,谢凡,程雪梅,等.正交试验优化滋肾养阴颗粒剂提取工艺[J].中成药,2017,39(1):213-215.
- [3] 中国药典[S].一部.2015.
- [4] 张红星.祛寒止痒颗粒中的麻黄、赤芍薄层色谱鉴别研究[J].中国民族民间医药,2013,14(1):14.
- [5] 钱智磊,须明玉,朱华旭,等.复方黄栀颗粒的质量标准研究[J].中药新药与临床药理,2010,21(3):287-291.
- [6] 李春雪,张晨,王长生,等.菊黄口服液质量控制方法研究[J].中草药,2015,46(12):1779-1784.
- [7] 刘亚华,武一曼.知柏地黄丸质量标准研究[J].时珍国医国药,2009,20(11):2686-2687.
- [8] 罗云,郝伟伟,王洁,等.高效液相色谱法测定六味地黄浓缩丸特征图谱及 4 种主要成分的含量[J].中国医院药学杂志,2012,32(10):748-751.
- [9] 张涛,司雪玲,赫玉芳,等.双黄清热颗粒质量标准研究[J].黑龙江医药,2012,25(6):866-867.