

- [3] 柏秀. 中药饮片市场存在的问题及监管对策研究[J]. 医学食疗与健康, 2020, 18(9): 201-203.
- [4] 王瑞娟, 胡晨骏, 张卫明. 基于射频识别技术的中药饮片行业产品电子代码编码方案研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2015, 17(1): 296-300.
- [5] Quality management systems-requirements: ISO 9001: 2015 [S]. 2015.
- [6] 施明毅, 胡禄, 欧瑞婷, 等. 中药质量追溯体系研究开发[J]. 亚太传统医药, 2018, 14(6): 75-77.
- [7] 刘昌孝. 基于中药质量标志物的中药质量追溯系统建设[J]. 中草药, 2017, 48(18): 3669-3676.
- [8] 季德, 李林, 王吓长, 等. 中药饮片产业链质量控制标准进程与展望[J]. 南京中医药大学学报, 2020, 36(5): 704-709.
- [9] 鹿岩, 刘健, 郭琳琳, 等. 某院中药饮片超药典使用的情况调查及影响因素分析[J]. 中国药房, 2017, 28(2): 157-160.
- [10] 石燕红. 中药材及中药饮片质量控制措施[J]. 山西医药杂志, 2018, 47(18): 2229-2231.
- [11] 李剑飞, 田成雍, 贺雅琴, 等. 中药全产业链质量追溯系统研究[J]. 中国医药导刊, 2019, 21(10): 619-622.
- [12] 郑晓梅, 谢佳东, 胡晨骏. 基于物联网的中药饮片质量追溯系统的架构[J]. 福建电脑, 2013, 29(6): 14-16.
- [13] 张辰露, 梁宗锁, 冯自立, 等. 我国中药材溯源体系建设进展与启示[J]. 中国药房, 2015, 26(16): 2295-2298.
- [14] 赵训铭, 刘建华. 射频识别(RFID)技术在食品溯源中的应用研究进展[J]. 食品与机械, 2019, 35(2): 212-216, 225.
- [15] 燕雨薇, 余粟. 二维码技术及其应用综述[J]. 智能计算机与应用, 2019, 9(5): 194-197.
- [16] 仲瑞雪, 吴纯洁, 胡晓梅, 等. 中药汤剂数字化服务系统的构建探析[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2015, 17(3): 744-749.
- [17] 刘剑波, 李欣逸, 任仕丰, 等. 中药汤剂合理用药方法在数字化系统中的实现[J]. 西南民族大学学报: 自然科学版, 2015, 41(6): 731-735.
- [18] 陆松茂, 杨文宁, 吴清云, 等. 防风质量追溯探索性研究[J]. 中国医药导刊, 2019, 21(10): 623-629.
- [19] 奚燕, 洪军, 吴旌. 基于二维码技术构建中药饮片质量追溯系统[J]. 药学服务与研究, 2019, 19(2): 156-158.
- [20] 金安琪, 池秀莲, 李明福, 等. 基于中药质量特征和HACCP体系的中药可追溯系统的应用[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(21): 5304-5308.

(收稿日期: 2020-11-25, 修回日期: 2020-12-19)

引用本文: 唐静月, 胡敏敏, 卞振华, 等. 清肺消痰合剂的质量标准研究[J]. 安徽医药, 2021, 25(8): 1488-1491. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2021.08.002.

◇ 药学研究 ◇



清肺消痰合剂的质量标准研究

唐静月, 胡敏敏, 卞振华, 袁晓航

作者单位: 无锡市中医医院药学部, 江苏 无锡 214000

通信作者: 胡敏敏, 女, 副主任中药师, 研究方向为中药制剂, Email: 47028239@qq.com

基金项目: 无锡市卫生计生委科研项目(MS201839);

全国中药特色技术传承人才培养项目(T20194828003)

摘要: **目的** 探讨清肺消痰合剂的质量控制标准。**方法** 采用薄层色谱法(TLC)对连翘、黄芩、黄柏进行鉴别; 采用高效液相色谱法(HPLC)对黄芩苷和小檗碱进行含量测定。**结果** 在选定的薄层色谱条件下, 连翘、黄芩、黄柏的斑点清晰, 分离度好, 阴性无干扰; 黄芩苷、小檗碱分别在 66.40~331.99 $\mu\text{g/mL}$ 、18.73~93.64 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内呈良好的线性关系(r 为 0.999 7~0.999 8), 平均加样回收率分别为 99.27%、99.65%, RSD 分别为 2.80%、2.58% ($n=6$)。**结论** 该方法简便准确, 重现性好, 可作为有效控制清肺消痰合剂质量的方法。

关键词: 色谱法, 薄层; 中草药; 清肺消痰合剂; 质量标准; 黄芩苷; 小檗碱

Study on the quality standards of *Qingfeixiaocuo* mixture

TANG Jingyue, HU Minmin, BIAN Zhenhua, YUAN Xiaohang

Author Affiliation: Department of Pharmacy, Wuxi Traditional Chinese Medicine Hospital, Wuxi, Jiangsu 214000, China

Abstract: **Objective** To explore the quality control standard of *Qingfeixiaocuo* mixture. **Methods** The thin layer chromatography (TLC) was used to identify forsythia, *Scutellaria baicalensis* and golden cypress. The high performance liquid method (HPLC) was used to determine the contents of baicalin and berberine. **Results** Forsythia, *Scutellaria baicalensis* and golden cypress could be detected and the spots were clear under the selected chromatographic conditions. There was no interference with the negative sample. Baicalin and berberine had good linear relationships in the concentration range of 66.40~331.99, 18.73~93.64 $\mu\text{g/mL}$, r of 0.999 7~0.999 8. The average recoveries were 99.27 % and 99.65 %, respectively. The RSD were 2.80 % and 2.58 %, respectively ($n=6$). **Conclusion** The

method has the advantages of simple operation, strong accuracy and good reproducibility. It can be used as an effective method to control the quality of *Qingfeixiaocuo* mixture.

Key words: Chromatography, thin layer; Drugs, chinese herbal; *Qingfeixiaocuo* mixture; Quality standard; Baicalin; Berberine

清肺消痰合剂是医院院内制剂,全方由枇杷叶、桑白皮、黄芩、黄柏、连翘等十味中药组成,具有清热泻火、消肿散结、凉血解毒的功效,临床用于治疗痤疮、粉刺、炎性丘疹^[1],疗效显著。据研究表明,黄芩苷具有抗炎、抗氧化等作用^[2-3];黄柏具有显著的抗菌、抗过敏等作用,为皮肤科常用药材^[4-5]。为了更好地控制清肺消痰合剂的质量并确保其临床有效性,本研究自2019年3—11月采用薄层色谱法对连翘、黄芩、黄柏进行定性鉴别,采用高效液相色谱法对黄芩苷和小檗碱进行含量测定。

1 材料与方法

1.1 仪器 Agilent 1200 高效液相色谱仪(DAD 二极管阵列检测器);Sartorius BSA224S-CW 分析天平;KQ-100 超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司);UV-8 紫外分析仪(上海分析仪器厂无锡分厂)。

1.2 材料 连翘、黄芩、黄柏对照药材(批号120908-201216、120955-201810、121510-201606)及连翘苷、黄芩苷、盐酸小檗碱对照品(批号110821-201816、110715-201821、110713-201814)均购自中国食品药品检定研究院;清肺消痰合剂(批号190701、190702、190703,自制);乙腈为色谱纯,娃娃哈纯净水,其余试剂均为分析纯。

1.3 薄层鉴别

1.3.1 连翘^[6-7] 取清肺消痰合剂10 mL,加入乙酸乙酯20 mL,振摇2次,合并乙酸乙酯液并蒸干,加甲醇溶解残渣,定容至2 mL,即得供试品溶液。称取连翘对照药材1 g,加石油醚(30~60℃)20 mL,密塞,超声15 min,滤过后弃去石油醚液,残渣挥干溶剂,加甲醇20 mL,超声20 min,滤过后浓缩至5 mL即得对照药材溶液。称取连翘苷适量,加甲醇配得1 mg/mL对照品溶液。按处方比例称取缺连翘的其余9味中药饮片,照合剂制备工艺制得缺连翘的阴性样品,按供试品溶液制备方法制得阴性样品溶液。吸取上述四种溶液各3 μ L,依次点于同一硅胶G薄层板,展开系统选择三氯甲烷-甲醇(5:1),10%硫酸乙醇溶液喷淋后置烘箱105℃加热5 min。

1.3.2 黄芩^[8-9] 取清肺消痰合剂10 mL,加稀盐酸溶液调节pH值至2,加乙酸乙酯20 mL,振摇2次,合并乙酸乙酯液并蒸干,加甲醇溶解残渣,定容至2 mL,即得供试品溶液。称取黄芩对照药材1 g,加乙酸乙酯-甲醇(3:1)溶液30 mL,回流提取30 min,滤

过后蒸干,加甲醇溶解残渣,定容至5 mL,即得对照药材溶液。称取黄芩苷适量,加甲醇配得1 mg/mL对照品溶液。按处方比例称取缺黄芩的其余9味中药饮片,照合剂制备工艺制得缺黄芩的阴性样品,按供试品溶液制备方法制得阴性样品溶液。吸取供试液及阴性样品溶液各1 μ L,对照药材及对照品溶液各3 μ L,依次点于同一硅胶G薄层板,展开系统选择甲苯-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(9:3:2:2),2%三氯化铁乙醇溶液喷淋后于日光下检视。

1.3.3 黄柏^[10-11] 取清肺消痰合剂40 mL,蒸干,加甲醇溶解残渣,定容至2 mL,即得供试品溶液。称取黄柏对照药材0.1 g,加1%醋酸甲醇溶液40 mL,超声20 min,滤过后蒸干,加甲醇溶解残渣,定容至2 mL,即得对照药材溶液。称取盐酸小檗碱适量,加甲醇配得1 mg/mL对照品溶液。按处方比例称取缺黄柏的其余9味中药饮片,照合剂制备工艺制得缺黄柏的阴性样品,按供试品溶液制备方法制得阴性样品溶液。吸取上述四种溶液各3 μ L,依次点于同一硅胶G薄层板,展开系统选择乙酸乙酯-丙酮-甲酸-水(10:7:1:1),于波长365 nm的紫外光灯下观察。

1.4 含量测定

1.4.1 色谱条件 色谱柱:Eclipse XDB-C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μ m)。流动相:乙腈(A)-0.1%磷酸二氢钾溶液(B)梯度洗脱(0~5 min,8%~9% A;5~15 min,9% A;15~17 min,9%~16% A;17~30 min,16% A;30~32 min,16%~25% A;32~45 min,25% A)。检测波长为325 nm,柱温30℃,流速为1.0 mL/min,进样量为10 μ L。

1.4.2 溶液的制备

1.4.2.1 对照品溶液的制备 精密称定适量对照品,加甲醇分别配得含黄芩苷1.66 mg/mL、含盐酸小檗碱0.47 mg/mL的对照品储备液。各精密量取5 mL至25 mL量瓶,加甲醇定容,即得。

1.4.2.2 供试品溶液的制备 精密量取本品1 mL至5 mL量瓶,加甲醇超声(100 W,40 kHz)10 min,定容,即得。

1.4.2.3 阴性样品溶液的制备 分别按处方比例称取其余9味中药饮片,按合剂制备方法制得缺黄芩、缺黄柏的阴性样品,按“1.4.2.2”项配制,即得。

1.4.3 方法学考察 分别将上述3种溶液按“1.4.1”

项条件注入色谱仪,测定,对专属性、线性、精密度、稳定性、重复性和加样回收率进行考察。

1.4.4 样品测定 取清肺消痰合剂3批样品配制供试液,照“1.4.1”项条件进样并计算含量。

2 结果

2.1 薄层鉴别 连翘、黄芩和黄柏薄层色谱图中供试品在与对照药材、对照品对应位置处,呈现颜色一致的斑点,在阴性样品图谱中未出现,对鉴别无干扰,结果见图1~3。

2.2 含量测定

2.2.1 专属性考察 分别将对照品溶液、供试品溶液和缺黄芩、缺黄柏阴性溶液按“1.4.1”项条件注入色谱仪,测定。供试品图谱中2种成分峰形良好,与相邻色谱峰分离完全,阴性无干扰,结果见图4。

2.2.2 线性关系考察 分别精密移取1.0,1.5,2.0,3.0,4.0,5.0 mL对照品溶液至5 mL量瓶,加甲醇定容。按“1.4.1”项条件测定,记录峰面积。横坐标、纵坐标分别为对照品浓度和峰面积,绘制标准曲线,结果见表1。

表1 线性关系试验结果

成分	回归方程	r值	线性范围/ ($\mu\text{g/mL}$)
黄芩苷	$Y=16.19X-52.80$	0.999 8	66.40~331.99
小檗碱	$Y=3.69X-6.67$	0.999 7	18.73~93.64

2.2.3 精密度试验 按“1.4.1”项下条件连续注入对照品溶液6次,记录黄芩苷、小檗碱峰面积。结果RSD分别为0.08%、0.12%。

2.2.4 稳定性试验 取本品(批号190701)配制供试液,在0,2,4,6,8,10,12 h时进样,记录黄芩苷、小檗碱峰面积。结果RSD分别为1.24%、0.46%。

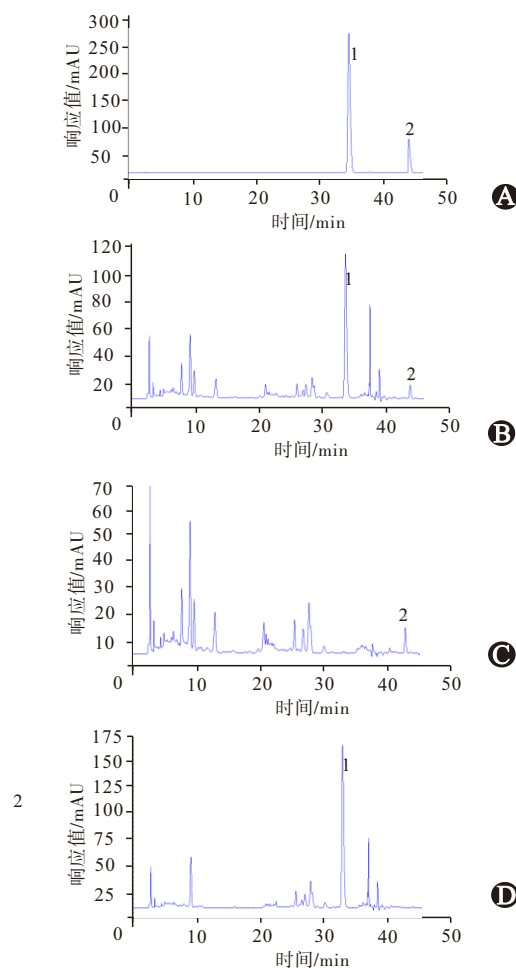
2.2.5 重复性试验 取本品(批号190701)6份,配制供试液,按“1.4.1”项下条件测定,计算各成分含量的RSD值。结果RSD分别为2.43%、1.74%。

2.2.6 回收率试验 精密移取已知含量的样品0.5 mL至5 mL量瓶,平行6份,分别加入适量黄芩苷和盐酸小檗碱对照品,配制供试液,按“1.4.1”项下条件测定,计算各成分回收率及RSD,结果见表2。

2.2.7 样品测定 3批样品中黄芩苷和小檗碱的含量结果见表3。

3 讨论

本研究通过TLC考察了方中主要药味,结果显示连翘、黄芩、黄柏的薄层鉴别斑点清晰,专属性强。试验对连翘进行鉴别时,曾选择多种展开系统,分离效果不佳,选择三氯甲烷-甲醇(5:1)条件后,发现各项指标良好。试验中黄芩的鉴别方法是



注:1—黄芩苷,2—盐酸小檗碱。

图4 HPLC色谱图:A为混合对照品;B为供试品;C为缺黄芩阴性样品;D为缺黄柏阴性样品

在药典方法基础上进行了改进,调整展开系统溶剂比例,显色后日光下观察,操作简便。本研究前期研究发现,方中枇杷叶采用正己烷-乙酸乙酯(7:3)、三氯甲烷-甲醇-水(13:7:2)、三氯甲烷-丙酮(12:1)等多种展开系统^[12-14],均不能有效分离斑点,斑点间界限模糊,比移值不一致。桑白皮药材进过多次展开系统的调整,阴性样品色谱图仍旧显现斑点,存在相似成分,综合考虑后不选择两者进行薄层鉴别。

此外,当流动相为乙腈-0.1%磷酸水时,色谱峰存在拖尾现象,改用乙腈-0.1%磷酸二氢钾溶液后^[15-16],黄芩苷、小檗碱和相邻色谱峰分离完全,峰型良好,故选其作为含量测定流动相。方中君药为枇杷叶与桑白皮,枇杷叶中齐墩果酸、熊果酸紫外吸收波长为210 nm,处于末端吸收状态,干扰较大。本试验拟建立同时测定桑皮苷A、黄芩苷和小檗碱的HPLC含量测定方法,但实验结果发现桑白皮中桑皮苷A阴性存在干扰,故不选择枇杷叶与桑白皮为含量测定对象。

表2 加样回收率实验结果($n=6$)

成分	样品含量/ μg	加入对照品含量/ μg	实测值/ μg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
黄芩苷	385.3	427	796.8	96.3	99.3	2.80
	385.3	427	803.6	97.9		
	385.3	427	829.5	103.9		
	385.3	427	802.1	97.5		
	385.3	427	808.6	99.0		
	385.3	427	817.0	101.0		
盐酸小檗碱	132	135	261	95.0	99.7	2.58
	132	135	267	100.0		
	132	135	269	101.8		
	132	135	265	98.6		
	132	135	270	102.5		
	132	135	267	99.7		

表3 清肺消痰合剂含量测定结果/(mg/L , $\bar{x} \pm s$)

样品批号	黄芩苷	小檗碱
190701	770.7 $\pm$ 2.03	263 $\pm$ 0.19
190702	746.9 $\pm$ 0.04	261 $\pm$ 0.48
190703	766.4 $\pm$ 0.46	267 $\pm$ 0.96

本研究建立了TLC法鉴别清肺消痰合剂中连翘、黄芩及黄柏,建立了HPLC法测定黄芩苷及小檗碱含量,可简便准确的反映该制剂质量,为其质量控制提供了理论依据,可作为有效控制该制剂质量的方法。

(本文图1~3见插图8-1)

参考文献

- [1] 王力军,王子雄.清肺消痰汤治疗寻常痤疮46例临床观察[J].河北中医,2012,34(11):1637.
- [2] 金鹏,许海舰,徐宝欣,等.黄芩苷研究现状及其镁盐研究前景[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(20):228-234.
- [3] 郑勇凤,王佳婧,傅超美,等.黄芩的化学成分与药理作用研究进展[J].中成药,2016,38(1):141-147.
- [4] 李嘉诚,吴岚,蔡同凯,等.黄柏化学成分及其药理作用研究进展[J].药学实践杂志,2018,36(5):389-391,398.
- [5] 杨庆珍,郑司浩,黄林芳.小檗碱提取方法和药理活性研究进展[J].中国新药杂志,2015,24(5):519-525,532.

- [6] 李星辰,姜慧祯.四时感冒合剂质量标准研究[J].甘肃医药,2018,37(5):452-455.
- [7] 洪挺,许妍,张昆艳,等.清热解毒颗粒质量标准研究[J].今日药学,2019,29(11):737-741.
- [8] 马静,宋毅,费小凡.鼻窍通颗粒中黄芩、黄芩的薄层鉴别研究[J].华西医学,2017,32(9):1409-1413.
- [9] 陈晓亮,汪旭.梔芩合剂质量控制方法的研究[J].安徽医药,2017,21(1):38-41.
- [10] 马宏达,崔英宇,高军,等.复方青黛散的质量标准研究[J].实用药物与临床,2016,19(2):211-215.
- [11] 王荣,毛跟年,贾莹,等.回药烫伤膏的制备与质量控制[J].时珍国医国药,2016,27(4):871-874.
- [12] 彭金年,程庚金生,李丹丹,等.薄层扫描法测定不同提取方法枇杷叶中齐墩果酸含量[J].辽宁中医药大学学报,2015,17(6):43-45.
- [13] 夏提古丽·阿不利孜,凯撒·苏莱曼,阿迪力·艾斯托拉,等.维药硬尖神香草中熊果酸的薄层鉴别方法研究[J].中国民族民间医药,2016,25(4):13-14,16.
- [14] 吴巧娜,邸琨,徐玉萍.芩蒿清热颗粒的质量控制[J].河北医药,2017,39(11):1736-1738,1742.
- [15] 蔡国云,邢婧,张琳,等.UPLC-PDA同时测定三黄方药液10种成分含量[J].药物分析杂志,2016,36(8):1357-1363.
- [16] 李辉标,陈慕媛,丘振文,等.HPLC法同时测定四黄止痛喷雾剂中黄芩苷、小檗碱和大黄素的含量[J].辽宁中医杂志,2017,44(12):2605-2607.

(收稿日期:2020-01-13,修回日期:2020-03-08)