

- [8] 胡瑞雪,梁元昊,徐文丽,等.一测多评法在中药中的应用及研究进展[J].药物分析杂志,2019,39(11):1968-1979.
- [9] 魏莹,肖莉,杨兰,等.不同产地佛手的香叶木苷及橙皮苷含量同时测定法[J].安徽医药,2021,25(1):32-34.
- [10] 陈黎,黄良永,叶方,等.UPLC-MS/MS法同时测定虎杖中9种蒽醌类和2种二苯乙烯类化学成分的含量[J].中南药学,2020,18(7):1143-1146.
- [11] 孔德喧,朱映睿,朱蔚然,等.HPLC同时测定虎杖根不同部位中的5种活性成分[J].中国现代中药,2020,22(1):53-57.
- [12] 倪慧,李会军.高效液相色谱-一测多评法测定酸枣仁中的2个黄酮活性成分含量[J].药学与临床研究,2021,29(1):15-18.
- [13] 黄远,董福越,李楚源,等.一测多评法测定板蓝根中6种化学成分的含量[J].中草药,2021,52(3):845-851.
- [14] 徐文武,谢涛,吕东峰,等.一测多评法同时测定红参中11种人参皂苷的含量[J].中草药,2021,52(7):2099-2105.
- [15] WANG C,ZHOU YM,GONG XH,et al.In vitro and in situ study on characterization and mechanism of the intestinal absorption of 2,3,5,4'-tetrahydroxy-stilbene-2-O- β -D-glucoside [J/OL].BMC Pharmacol Toxicol,2020,21:7. DOI: 10.1186/s40360-020-0384-9.
- [16] 刘丽芳.中药分析学[M].北京:中国医药科技出版社,2019:389-392.
- [17] 刘丹,于丽红,李磊.提高白藜芦醇生物利用度的制剂策略[J].医药导报,2018,37(3):333-337.
- [18] 杨洋,黄良永,朱美玲,等.一测多评法在中国药典2015年版中的应用[J].中南药学,2017,15(12):1738-1741.

(收稿日期:2021-05-14,修回日期:2021-07-06)

引用本文:汪玉萍,杨积慧,江厚义,等.小儿智力糖浆质量标准提高研究[J].安徽医药,2022,26(8):1525-1528.
DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2022.08.009.



◇ 药物分析 ◇

小儿智力糖浆质量标准提高研究

汪玉萍¹,杨积慧¹,江厚义²,刘军玲³,程世云³作者单位:¹安庆市食品药品检验中心,安徽 安庆 246052;²上海宝龙安庆药业有限公司,安徽 安庆 246001;³安徽省食品药品检验研究院,安徽 合肥 230051

通信作者:程世云,女,副主任中药师,研究方向为药品质量分析及质量标准研究,Email:live781210@sina.com

基金项目:《中国药典》药品标准提高课题(WX-17-33)

摘要: 目的 对小儿智力糖浆的质量标准进行提高完善。方法 采用薄层色谱法对石菖蒲、龟甲进行定性鉴别;采用高效液相色谱法测定远志皂苷元的含量,色谱柱为 Waters Symmetry Shield™ RP₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μ m);以乙腈-0.05% 磷酸溶液(41:59)为流动相;流速为 1.0 mL/min,检测波长为 210 nm,柱温为 35 $^{\circ}$ C;进样量为 10 μ L。结果 薄层色谱中斑点清晰,阴性对照无干扰;远志皂苷元在 0.006 03~0.120 60 g/L 内线性关系良好($r=0.999\ 9$),平均加样回收率为 89.7% (RSD=3.1%, $n=6$)。结论 该研究建立的鉴别和含量测定方法为小儿智力糖浆质量标准提高完善提供了科学依据。

关键词: 远志属; 菖蒲属; 小儿智力糖浆; 质量标准; 薄层色谱; 高效液相色谱

Improvement of quality standard of Xiaoe Zhili syrups

WANG Yuping¹, YANG Jihui¹, JIANG Houyi², LIU Junling³, CHENG Shiyun³

Author Affiliations:¹Anqing Testing Center for Food and Drug, Anqing, Anhui 246052, China;²Shanghai Baolong Anqing Pharmaceutical Co., Ltd, Anqing, Anhui 246001, China;³Anhui Institute of Food and Drug Control, Hefei, Anhui 230051, China

Abstract: **Objective** To improve the quality standard of Xiaoe Zhili syrups. **Methods** The qualitative identification of Acori Tatarinowii Rhizoma and Testudinis Carapax et Plastrum were carried out by thin-layer chromatography, and the content of Senegenin was determined by high performance liquid chromatography. The column was Waters Symmetry Shield™ RP₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μ m), and acetonitrile-0.05% phosphoric acid solution (41:59) was used as the mobile phase; the flow rate was set at 1.0 mL/min, the detection wavelength was 210 nm, the column temperature was 35 $^{\circ}$ C, and the injection volume was 10 μ L. **Results** The spots in thin layer chromatography were clear, and the negative control had no interference. Senegenin had a good linear relationship within 0.006 03-0.120 60 g/L ($r=0.999\ 9$), and the average recovery rate was 89.7% (RSD=3.1%, $n=6$). **Conclusion** The identification and content determination methods established in this study provide a scientific basis for improving the quality standard of Xiaoe Zhili syrups.

Key words: Polygala; Acorus; Xiaoe Zhili syrups; Quality standard; TLC; HPLC

小儿智力糖浆是由龟甲、龙骨、远志、石菖蒲、雄鸡等5味药组成,收载于卫生部药品标准中药成方制剂第八册,标准号为WS₃-B-1496-93^[1]。2004年5月25日国家食品药品监督管理局国家药品标准(修订)颁布件ZGB2004-31将标准中“功能与主治”的内容修订为“开窍益智,调补心肾,滋养安神等作用。用于心肾不足,痰浊阻窍所致小儿多动,少语,烦躁不安,神思涣散,少寐健忘,潮热盗汗;儿童多动症见上述证候者”;标准号修订为WS₃-B-1496-93-2004,其他内容未作修订。检验项目包括:性状、远志的薄层鉴别、相对密度检查及糖浆剂的通则检查^[2]。其质量标准较为简单,不能全面有效地控制其药品内在质量;因此有必要建立更为完善的质量控制体系,以利于对该药品进行有效的质量控制。本研究时间为2021年1—5月,在原质量标准的基础上增加了石菖蒲和龟甲的定性鉴别方法,增加了高效液相色谱法(HPLC)测定其远志皂苷元的含量,对小儿智力糖浆质量控制方法进行了较为系统的提高完善,本研究建立的鉴别和含量测定方法为小儿智力糖浆质量标准的修订提供了科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料 全自动点样仪(CAMAG公司);Agilent1260型高效液相色谱仪(包括G1315D型DAD检测器),Agilent公司;Waters SymmetryShield™ RP₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);双槽展开缸(规格10 cm×10 cm;10 cm×20 cm,上海信谊仪器厂);硅胶G薄层板:青岛海洋化工厂分厂;Merk公司。XP26型电子天平(瑞士梅特勒公司, d=0.001 mg);S120H型超声波清洗器(德国Elma公司)。

石菖蒲对照药材(批号121098-201105)、龟甲对照药材(批号121494-201102)、丙氨酸对照品(批号140680-201604,含量100.0%)、远志皂苷元对照品(批号111572-201803,含量98.5%),对照药材及对照品购自中国食品药品检定研究院。

小儿智力糖浆12批(批号为190333、190334、190336、180111由A公司提供;批号为180802、180906、181106由B公司提供;批号为17060006、18010002、19030001由C公司提供,批号为20181002、20181102由D公司提供)。

三氯甲烷、乙酸乙酯、乙醚、正丁醇、石油醚(60~90℃)、盐酸、苯酚、硼酸、甲醇等均为分析纯(国药集团化学试剂有限公司)。水为纯化水。

1.2 方法

1.2.1 薄层色谱鉴别方法

1.2.1.1 石菖蒲 取本品20 mL,加乙醚振摇提取3次,每次30 mL,合并乙醚液,低温蒸干,残渣加乙酸

乙酯1 mL溶解,作为供试品溶液。另取石菖蒲对照药材1 g,加水50 mL,加热回流30 min,滤过,滤液加乙醚振摇提取3次,每次30 mL,合并乙醚液,低温蒸干,残渣加乙酸乙酯1 mL溶解,作为对照药材溶液。按小儿智力糖浆处方和工艺制备缺石菖蒲的阴性样品,并按照供试品溶液的制备方法制备成缺石菖蒲阴性对照溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2020年版四部 通则0502)试验,吸取上述对照药材溶液5~10 μL、供试品溶液及阴性样品各10~15 μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以石油醚(60~90℃)-乙酸乙酯(4:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。

1.2.1.2 龟甲 取本品1 mL,加水20 mL和盐酸3 mL,加热回流60 min,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇5 mL使溶解,滤过,滤液作为供试品溶液。另取丙氨酸对照品适量,加甲醇制成每1 mL含1 mg的溶液,作为对照品溶液。按小儿智力糖浆处方和工艺制备缺龟甲的阴性样品,并按照供试品溶液的制备方法制备成缺龟甲阴性对照溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2020年版四部 通则0502)试验,吸取供试品溶液及阴性样品各5~10 μL、对照品溶液1~2 μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以苯酚-0.5%硼酸溶液(4:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以0.2%的茚三酮乙醇溶液,在105℃加热至斑点显色清晰。

1.2.2 HPLC含量测定方法 色谱柱为Waters SymmetryShield™ RP₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);以乙腈-0.05%磷酸溶液(41:59)为流动相;检测波长为210 nm,柱温:35℃;进样量:10 μL,理论板数按远志皂苷元峰计算应不低于3 000。精密称取远志皂苷元对照品6.12 mg,置50 mL量瓶中,加甲醇使溶解并稀释至刻度,即得(浓度为0.120 6 g/L),作为对照品储备溶液。精密量取对照品储备溶液2 mL加甲醇稀释至10 mL作为对照品溶液。精密量取本品10 mL,置100 mL具塞锥形瓶中,加12.5%的盐酸溶液40 mL,摇匀,置沸水浴中加热回流1 h,立即冷却至室温,滤过,滤渣用水冲洗至中性,滤渣及锥形瓶晾干,连同滤纸置原锥形瓶中,精密加入甲醇50 mL,密塞,称定重量,超声处理(功率250 W,频率50 kHz)30 min,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。按处方组成比例,取除远志以外的其余药味,按制备工艺要求,制成不含远志的小儿智力糖浆阴性样品,并按照供试品溶液同法制备成阴性溶液。按上述色谱条件,分别精密量取远志皂苷元对照品溶液、样品溶液及阴性样品溶液各10 μL注入高效液相色谱仪

进行测定。

2 结果

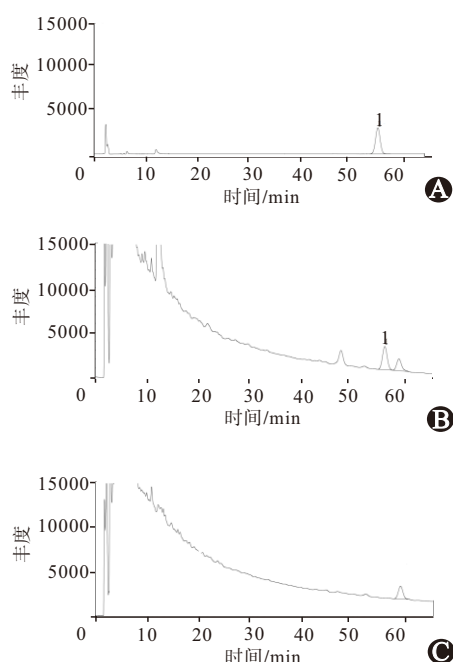
2.1 薄层色谱分析结果

2.1.1 石菖蒲薄层色谱鉴别 照薄层色谱法(中国药典2020年版四部通则0502)试验,3批小儿智力糖浆样品色谱图中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光主斑点,且阴性样品对鉴别结果无干扰,薄层色谱图见图1。

2.1.2 龟甲薄层色谱鉴别 照薄层色谱法(中国药典2020年版四部通则0502)试验,3批小儿智力糖浆样品色谱图中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。且阴性样品对鉴别结果无干扰,薄层色谱图见图1。

2.2 远志皂苷元含量测定结果

2.2.1 专属性试验 按“1.2.2”项下色谱条件,分别取“1.2.2”项下供试品溶液、“1.2.2”项下远志皂苷元对照品溶液和“1.2.2”项下阴性对照溶液进样分析,记录液相色谱图,见图2。实验表明,处方中其他药味对远志皂苷元的测定无干扰。



注:1—远志皂苷元。

图2 高效液相色谱图:A为对照品溶液;B为供试品溶液;C为阴性对照溶液

2.2.2 线性关系的考察 精密吸取“1.2.2”项下对照品储备溶液0.5、1、2、4、5、10 mL,分别置10 mL量瓶中,加甲醇至刻度,即得。分别吸取10 μ L进样,按“1.2.2”项下色谱条件测定峰面积,以峰面积积分值为纵坐标(Y),远志皂苷元进样浓度(g/L)为横坐标(X),实验数据线性回归处理,得回归方程 $Y=7\,928\,515.5X+1\,202.1$ ($r=0.999\,9$, $n=6$)。实验表明:远志皂

苷元对照品在所试浓度为0.006 03~0.120 60 g/L范围内与峰面积积分值具有良好的线性关系。

2.2.3 精密度试验 精密吸取对照品溶液10 μ L,连续进样6次,其远志皂苷元峰面积测量值的相对标准偏差为0.25%,表明仪器精密度良好。

2.2.4 重复性试验 取同一批小儿智力糖浆(批号190334)的样品6份,按“1.2.2”项下方法制备供试品溶液,测定供试品中远志皂苷元的含量,结果样品中远志皂苷元含量为0.105 8 g/L,其RSD为1.78%。实验表明本法重现性较好。

2.2.5 稳定性试验 取配制好的同一供试品溶液,按“1.2.2”项下色谱条件分析,分别于配制后0、2、4、8、12、24 h精密量取10 μ L注入液相色谱仪。结果远志皂苷元峰面积RSD为0.60%,表明供试品溶液在24 h内基本稳定。

2.2.6 准确度试验 分别精密量取远志皂苷元对照品甲醇溶液(配制过程:精密称取远志皂苷元3.975 mg,置10 mL量瓶中,加甲醇使溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。浓度为0.391 5 g/L)6份,每份1 mL,置100 mL具塞锥形瓶中,蒸干,再精密量取同一批已知含量的小儿智力糖浆(批号190334,含量为0.105 8 g/L)的样品6份,每份5 mL至上述锥形瓶,加水补足至10 mL,按“1.2.2”项下方法处理,滤过,取续滤液,即得。按“1.2.2”项下色谱条件测定其远志皂苷元的含量,计算平均回收率为89.7%,RSD=3.1%。实验表明:本法准确性较好。结果见表1。

表1 加样回收率试验结果

取样量/mL	样品含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%
5.00	0.529 0	0.391 5	0.895 3	93.56
5.00	0.529 0	0.391 5	0.885 2	90.98
5.00	0.529 0	0.391 5	0.886 9	91.42
5.00	0.529 0	0.391 5	0.866 0	86.08
5.00	0.529 0	0.391 5	0.871 7	87.54
5.00	0.529 0	0.391 5	0.875 3	88.45

2.2.7 样品含量测定 取12批不同厂家的小儿智力糖浆,分别按“1.2.2”项下方法制备供试品溶液,对照品溶液和样品溶液,分别进样10 μ L,按“1.2.2.”项下色谱条件进行测定,计算各批样品中远志皂苷元的含量。结果见表2。

3 讨论

3.1 薄层色谱鉴别研究^[3-5] 在研究石菖蒲薄层色谱鉴别时,分别比较了二氯甲烷、乙醚、石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)等不同溶剂的提取溶剂,结果显示采用乙醚为提取溶剂时样品斑点清晰,且提取方法简单可

表2 小儿智力糖浆中远志皂苷元的含量/(g/L, n=2)

序号	样品批次	远志皂苷元含量
1	190333	0.101 8
2	190334	0.105 8
3	190336	0.110 9
4	180111	0.117 8
5	17060006	0.480 5
6	18010002	0.390 9
7	19030001	0.227 1
8	180802	0.159 1
9	180906	0.186 1
10	181106	0.131 2
11	20181002	0.013 6
12	20181102	0.025 0

行,故选用乙醚为提取溶剂液,选择石油醚(60~90℃)-乙酸乙酯(4:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm下)检视,色谱斑点清晰,阴性对照无干扰。

龟甲的薄层色谱鉴别中采用了龟甲对照药材和丙氨酸对照品为对照,结果龟甲对照药材与阴性样品有部分斑点一致,故未将龟甲对照药材纳入标准正文的质量标准中。

3.2 远志的含量测定研究及限度拟定^[5-13] 根据国家药典委员会药品标准提高课题申报书综合意见单上要求,增加远志专属性成分的含量测定方法。远志为中医临床常用药,其功效主要有安神益智,交通心肾,祛痰,消肿。远志的主要活性成分为皂苷类、酮类、寡糖酯类,其中皂苷类成分主要有远志皂苷元、细叶远志皂苷、远志酸、远志皂苷B等,酮类成分主要为远志口山酮Ⅲ;寡糖酯类成分主要为3,6'-二芥子酰基蔗糖等。开始选择远志口山酮Ⅲ和3,6'-二芥子酰基蔗糖作为指标成分,但小儿智力糖浆样品中未检出这两种成分,再选择细叶远志皂苷为指标成分进行含量测定方法研究,因细叶远志皂苷为碱水解的二次皂苷,水解条件苛刻,方法重现性差,回收率低。后来再选择远志皂苷元作为指标成分。经方法学验证表明:本法准确、重现性好,可作为该制剂的定量分析控制方法。样品中远志皂苷元的含量高低与生产企业有关,C公司生产的小儿智力糖浆样品含量最高可达0.480 5 g/L,而D公司生产的小儿智力糖浆样品含量仅0.013 6 g/L,这可能与不同企业购买的远志药材有关,因《中国药典》

2020年版一部中远志药材项下无远志皂苷元含量测定项,将C公司生产的三批含量特别高以及D公司生产的两批含量特别低的离群样本弃掉,得平均值为0.130 4 g/L,按照平均值下浮20%的量拟定限度为0.10 g/L,因此暂定样品中远志皂苷元的含量限度定为:“本品每1毫升含远志以远志皂苷元($C_{30}H_{45}ClO_6$)计,不得少于0.10 mg”。

4 结论

本研究在小儿智力糖浆现有质量标准的基础上增加了石菖蒲和龟甲的薄层色谱鉴别,增加了远志皂苷元的含量测定。建立了较完整的质量评价体系,为小儿智力糖浆的质量标准提高完善提供了科学依据。

(本文图1见插图8-2)

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部药品标准:中药成方制剂第八册 WS3-B-1496-93[S]. 北京:中华人民共和国卫生部药典委员会, 1993.
- [2] 国家食品药品监督管理局国家药品标准(修订)颁布件: WS3-B-1496-93-2004[S]. 北京:国家食品药品监督管理局;2004.
- [3] 张德珂,李季,李玥,等. 参茸益智胶囊的质量研究[J]. 食品与药品, 2019,21(6):430-434.
- [4] 李洁,杨骏,何琳,等. 知柏龙胆片质量标准的研究[J]. 中成药, 2019,41(4):888-891.
- [5] 国家药典委员会. 中国药典:2020年版一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2020:93,163,187.
- [6] 黄秋强,林连华. 安神中药远志的研究进展[J]. 世界睡眠医学杂志, 2021,8(1):183-184.
- [7] 王小雨,刘传鑫,周佳丽,等. 中药远志的化学成分和药理作用研究进展及其潜在质量标志物预测分析[J]. 国际药学研究杂志, 2020,47(7):483-495.
- [8] 黄和军,杨军辉,陈国宝,等. 降脂合剂的质量标准研究[J]. 中医药学报, 2019,47(6):78-82.
- [9] 顾瑛媛. HPLC法测定苦远志中远志皂苷元含量[J]. 亚太传统医药, 2016,12(7):21-23.
- [10] 王媛媛,彭亮,胡本祥. 不同商品等级远志药材的质量分析研究[J]. 中草药, 2017,48(18):3833-3840.
- [11] 张琳,杨冰月,王晶,等. 不同产地野生远志中5种主要成分的含量测定及质量分析[J]. 中草药, 2020,51(6):1609-1616.
- [12] 高晗,李哲. HPLC法测定脑力宝丸中远志皂苷元含量[J]. 中国民族民间医药, 2020,29(13):49-51.
- [13] 李德林,任路路,李小伟,等. 金桑颗粒的质量标准研究[J]. 安徽医药, 2021,25(4):669-672.

(收稿日期:2021-07-14,修回日期:2021-08-20)