

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.12.021

## 蜡梅花配方颗粒质量标准研究\*

张强<sup>1,2</sup>, 曾令连<sup>1</sup>, 李磊<sup>1,2</sup>

(1. 仲景宛西制药股份有限公司, 河南 南阳 474550; 2. 河南省中药固体制剂技术创新中心, 河南 南阳 474550)

**摘要:**目的 建立蜡梅花配方颗粒的质量标准。方法 采用薄层色谱(TLC)法对制剂中蜡梅花进行定性鉴别;采用高效液相色谱(HPLC)法测定制剂中芦丁含量,色谱柱为 Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub>柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-1%冰醋酸溶液(32:68, V/V),流速为 1.0 mL/min,检测波长为 257 nm,柱温为 30℃,进样量为 5 μL。结果 TLC图斑点清晰,分离度好,阴性对照无干扰。芦丁进样量在 0.127 1~1.906 5 μg 范围内与峰面积线性关系良好( $r=0.999\ 9, n=6$ );精密性、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 0.60%;平均加样回收率为 98.21%,RSD 为 1.08%( $n=6$ )。结论 所建立的方法简便易行,结果准确可靠,可用于蜡梅花配方颗粒的质量控制。

**关键词:**蜡梅花配方颗粒;薄层色谱法;高效液相色谱法;质量标准

中图分类号:R917;R927

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)12-0088-03

### Quality Standard of Lameihua Dispensing Granules

ZHANG Qiang<sup>1,2</sup>, ZENG Linglian<sup>1</sup>, LI Lei<sup>1,2</sup>

(1. Zhongjing Wanxi Pharmaceutical Co., Ltd., Nanyang, Henan, China 474550; 2. Henan Province Technological Innovation Center for Solid Preparations of Traditional Chinese Medicine, Nanyang, Henan, China 474550)

**Abstract: Objective** To establish the quality standard of Lameihua Dispensing Granules. **Methods** Thin-layer chromatography (TLC) method was used for the qualitative identification of Flos Chimionanthi Praecocis in the preparation. High-performance liquid chromatography (HPLC) method was used for the content determination of rutin in the preparation, the chromatographic column was Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub> column (150 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol-1% glacial acetic acid solution (32:68, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 257 nm, the column temperature was 30℃, and the injection volume was 5 μL. **Results** The TLC spots were clear with good separation, and the negative control had no interference. The linear range of rutin was 0.127 1-1.906 5 μg ( $r=0.999\ 9, n=6$ ). The RSDs of precision, stability and repeatability tests were less than 0.60%. The average recovery of rutin was 98.21% with an RSD of 1.08% ( $n=6$ ). **Conclusion** The method is simple, accurate and reliable, which can be used for the quality control of Lameihua Dispensing Granules.

**Key words:** Lameihua Dispensing Granules; TLC; HPLC; quality standard

蜡梅花为蜡梅科植物蜡梅 *Chimonanthus praecox* (L.) Link 的花蕾,有解暑清热、理气开郁功效<sup>[1]</sup>,常用于治疗暑热烦渴、头晕、胸闷脘痞、梅核气<sup>[2]</sup>、咽喉肿痛、

百日咳、小儿麻疹<sup>[3]</sup>、烫火伤。蜡梅花中主要含有氨基酸、多肽、蛋白质、还原糖、多糖、苷类、皂苷、有机酸、酚类、鞣质、萜醌、甾体、三萜、挥发油<sup>[4-9]</sup>、黄酮、香豆

\*基金项目:河南省重大科技专项[191110310900]。

第一作者:张强,男,大学本科,中级工程师,研究方向为中药鉴定与研究,(电子信箱)zhangqiang19910916@126.com。

- [13] 姜俊,邹韵,孙丽鹏,等. 顶空气相色谱质谱联用测定厄贝沙坦中遗传毒性杂质 N-亚硝基二甲胺和 N-亚硝基二乙胺[J]. 分析实验室, 2020, 39(2): 245-248.
- [14] 于颖洁. 药物中 N-亚硝胺类杂质的检测方法研究[D]. 北京:中国食品药品检定研究院, 2021.
- [15] TSCHARRE M, MICHELSON AD, GREMEL T. Novel Antiplatelet Agents in Cardiovascular Disease [J]. J Cardiovasc Pharmacol Ther, 2020, 25(3): 191-200.
- [16] 阎欢,吴楠,吴静,等. 替格瑞洛的合成[J]. 沈阳化工大学学报, 2018, 32(2): 157-160.
- [17] 赵娜,石靖. 仿制药一致性评价中杂质研究的常见问题探讨[J]. 中国医药工业杂志, 2021, 52(5): 703-708.
- [18] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2020: 527-530.
- [19] 杨竹,杭太俊,郭晓迪,等. N-亚硝胺类基因毒性杂质的研究进展[J]. 药学与临床研究, 2020, 28(4): 270-274.
- [20] 葛雨琦,叶晓霞,乐健,等. 厄贝沙坦制剂中 N-亚硝胺类基因毒性杂质的 GC-MS/MS 测定[J]. 中国医药工业杂志, 2020, 51(6): 759-764.
- [21] 葛雨琦,叶晓霞,乐健,等. N-亚硝胺类基因毒性杂质毒性与检测方法研究进展[J]. 药物分析杂志, 2020, 40(1): 83-89.
- [22] U. S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research. Control of Nitrosamine Impurities in Human Drugs: Guidance for Industry[EB/OL]. (2021-02)[2021-10-12]. <https://www.fda.gov/media/141720/download>.

(收稿日期:2021-10-13;修回日期:2021-12-17)

素<sup>[10]</sup>、油脂等物质<sup>[11-15]</sup>。蜡梅花配方颗粒现行标准依2018年版《湖北省中药材质量标准》采用蜡梅花药材为原料,按常规颗粒剂的方法制备。为此,本研究中采用薄层色谱(TLC)法对蜡梅花进行定性鉴别,采用高效液相色谱(HPLC)法对其进行含量测定,以建立该制剂可行的专属质量标准。现报道如下。

## 1 仪器与试药

### 1.1 仪器

Waters e2695 - 2489 型高效液相色谱仪(美国Waters公司);FK224型电子分析天平(南京伯尼塔科学仪器有限公司);EX2252H / AD型电子分析天平(美国Ohaus公司);KQ - 500DE型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

### 1.2 试药

芦丁对照品(中国食品药品检定研究院,批号为100080 - 201811,含量为91.7%);蜡梅花对照药材(成都普菲德生物技术有限公司,批号为181010);蜡梅花配方颗粒[仲景宛西制药股份有限公司,批号分别为181101,181102,181103,规格为每袋1.5 g(相当于饮片6 g)];薄层板(青岛海洋化工有限公司,规格为100 mm × 100 mm);甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 TLC 鉴别

取样品粉末约1 g,精密称定,加乙醇30 mL,加热回流30 min,放冷,滤过,蒸干,残渣加水10 mL使溶解,用乙酸乙酯振摇提取2次,每次10 mL,合并乙酸乙酯提取液,蒸干,残渣加甲醇1 mL使溶解,作为供试品溶液;取蜡梅花对照药材1 g,按供试品溶液制备方法制成对照药材溶液;按蜡梅花配方颗粒处方及工艺,制备缺蜡梅花的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。取上述溶液各2 μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以石油醚(60~90℃) - 乙酸乙酯 - 甲酸(5.5:3.5:0.1, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以1%三氯化铝乙醇试液,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色荧光斑点,且阴性对照无干扰。详见图1。

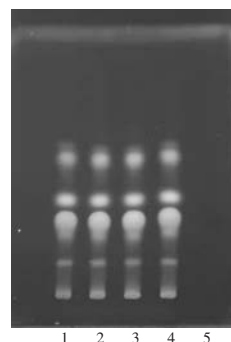
### 2.2 含量测定

#### 2.2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent Zorbax SB - C<sub>18</sub>柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇 - 1%冰醋酸溶液(32:68, V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:257 nm;柱温:30℃;进样量:5 μL。

#### 2.2.2 溶液制备

取芦丁对照品适量,加甲醇制成每1 mL含1.271 0 mg



1 - 3. 供试品溶液 4. 对照药材溶液 5. 阴性对照品溶液

图1 薄层色谱图

1 - 3. Test solution 4. Reference medicinal materials solution

5. Negative reference solution

Fig. 1 TLC chromatograms

的对照品贮备液,取适量,稀释为质量浓度为0.127 1 mg/mL的对照品溶液;取样品约0.5 g,加甲醇100 mL,超声(功率250 W,频率40 kHz,下同)处理30 min,放冷,滤过,取续滤液,即得供试品溶液;按蜡梅花配方颗粒处方及工艺制备缺芦丁的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

#### 2.2.3 方法学考察

系统适用性试验:取2.2.2项下3种溶液适量,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应位置有吸收峰,理论板数按芦丁峰计应不低于3 000,分离度 > 1.5,基线分离良好,且阴性对照无干扰。详见图2。

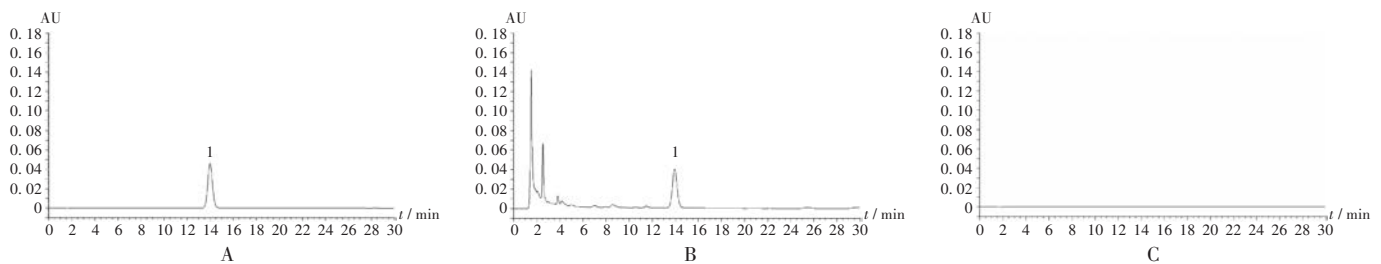
线性关系考察:精密吸取2.2.2项下对照品溶液1, 2, 5, 8, 10, 15 μL,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测成分进样量(X, μg)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 2\ 131\ 900X - 39\ 295$  ( $r = 0.999\ 9, n = 6$ )。结果表明,芦丁进样量在0.127 1 ~ 1.906 5 μg范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:取2.2.2项下对照品溶液适量,按2.2.1项下色谱条件进样测定6次,记录峰面积。结果的RSD为0.29% ( $n = 6$ ),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取供试品(批号为181101)溶液适量,室温下放置0, 2, 4, 6, 8, 12 h,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果的RSD为0.45% ( $n = 6$ ),表明供试品溶液室温下放置12 h内稳定。

重复性试验:取同一批(批号为181101)样品,按2.2.2项下方法平行制备供试品溶液6份,再按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算芦丁含量。结果的RSD为0.59% ( $n = 6$ ),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取样品(批号为181101)粉末0.25 g,共6份,置100 mL容量瓶中,加对照品贮备液5 mL,再



1. 芦丁

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图2 高效液相色谱图

1. Rutin

A. Reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 2 HPLC chromatograms

加甲醇适量,超声处理30 min,放冷,用甲醇定容,摇匀,滤过,按2.2.1项下色谱条件进样测定,计算加样回收率。结果见表1。

表1 加样回收试验结果(n=6)

Tab. 1 Results of the recovery test (n=6)

| 取样量<br>(g) | 样品含量<br>(mg) | 加入量<br>(mg) | 测得量<br>(mg) | 回收率<br>(%) | $\bar{X}$<br>(%) | RSD<br>(%) |
|------------|--------------|-------------|-------------|------------|------------------|------------|
| 0.254 7    | 5.460 8      | 6.355 0     | 11.672 4    | 97.74      | 98.21            | 1.08       |
| 0.251 8    | 5.398 6      | 6.355 0     | 11.670 8    | 98.70      |                  |            |
| 0.252 2    | 5.407 2      | 6.355 0     | 11.636 8    | 98.03      |                  |            |
| 0.265 3    | 5.688 0      | 6.355 0     | 11.837 5    | 96.77      |                  |            |
| 0.263 8    | 5.655 9      | 6.355 0     | 11.888 2    | 98.07      |                  |            |
| 0.250 1    | 5.362 1      | 6.355 0     | 11.714 4    | 99.96      |                  |            |

### 2.2.4 样品含量测定

取3批样品各适量,分别按2.2.2项下方法制备供试品溶液,再按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量。结果3批样品中芦丁含量分别为21.44,21.83,22.56 mg/g,平均21.94 mg/g。

### 3 讨论

为提高检测效率,预试验中对多项试验条件进行了考察,最终得出相对较好的试验条件。溶剂方面,分别考察了采用甲醇、70%甲醇、50%甲醇为溶剂的检测效果,发现以甲醇为溶剂时提取效率最高,故本研究中选择甲醇为溶剂。色谱柱方面,分别选择 Xtimate XB-C<sub>18</sub>柱(150 mm×4.6 mm,5 μm)、Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub>柱(150 mm×4.6 mm,5 μm)及 Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub>柱(250 mm×4.6 mm,5 μm)对样品有效成分进行检测,结果目标成分均可有效分离且峰形良好,最终选择的 Agilent Zorbax SB-C<sub>18</sub>柱(150 mm×4.6 mm,5 μm)出峰速度更快,有效节省了检测时间及试剂。流动相方面,分别采用甲醇-1%乙酸溶液、甲醇-0.1%乙酸溶液、甲醇-0.5%乙酸溶液为流动相进行检测,结果采用甲醇-1%乙酸溶液为流动相时分离效果最佳,故选择。

综上所述,本研究中所建立的方法简便易行,结果

准确可靠,可用于蜡梅花配方颗粒的质量控制。随着配方颗粒国家标准的执行,相应标准不断提高,考虑到中药材不同基源产生的影响,为完善蜡梅花配方颗粒的质量标准,下一步将建立其特征图谱以进一步研究。

### 参考文献

- [1] 胡献国. 中药梅花:食疗佳材,解郁健脾[J]. 中药学:用药与健康,2017(2):94.
- [2] 任小亲,郑峰. 沈宗国论治类梅核气经验[J]. 湖南中医杂志,2021,37(8):35-37.
- [3] 周洁雯,林菁,马丙南. 中药外洗方辅助治疗小儿麻疹30例[J]. 中医外治杂志,2019,28(6):30-31.
- [4] 陆安霞,周心如,叶玉龙,等. 蜡梅花离体摊放过程中香气感官评价和挥发性物质分析[J]. 园艺学报,2020,47(1):73-84.
- [5] 钱晓慧,陈龙清,李彪,等. 云南地区不同基因型蜡梅花香气成分分析[J]. 西南农业学报,2021,34(4):834-841.
- [6] 冯楠. 蜡梅花香挥发物测定及2个萜烯合酶基因功能初步研究[D]. 武汉:华中农业大学,2017.
- [7] 余莉. 蜡梅花挥发性组分与花色色素分析[D]. 武汉:华中农业大学,2013.
- [8] 熊敏,周明芹,向林,等. 蜡梅花挥发油成分的GC-MS分析[J]. 华中农业大学学报,2012,31(2):182-186.
- [9] 李莹莹. 蜡梅花挥发物组分测定及芳樟醇合成酶启动子分析[D]. 武汉:华中农业大学,2015.
- [10] 李帅岚,邹峥嵘. 蜡梅属植物中黄酮和香豆素类成分及药理活性研究进展[J]. 中草药,2018,49(14):3425-3431.
- [11] 潘从飞. 蜡梅花及其超临界CO<sub>2</sub>萃取物化学成分的研究[D]. 重庆:西南大学,2017.
- [12] 张昕欣,芦建国,李广彬,等. 蜡梅研究进展及趋势展望[J]. 河北林业科技,2008(4):42-44.
- [13] 周明芹,向林,陈龙清. 蜡梅花香及花色色素成分的初步研究[J]. 北京林业大学学报,2007,29(S1):22-25.
- [14] 徐萌. 基于蜡梅属植物花化学成分的种间差异性研究[D]. 杭州:浙江农林大学,2016.
- [15] 龚明,孙春红,邹峥嵘. 蜡梅花石油醚萃取物的GC-MS分析及AChE抑制率测定[J]. 时珍国医国药,2015,26(4):780-782.

(收稿日期:2021-09-24;修回日期:2022-01-07)