

中图分类号: R932; R284.1; R286.0 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)17-0079-04  
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.17.019



# 十一味定喘口服液质量控制方法研究\*

任莹, 孙志晴, 李智, 王鑫瑞, 李乔<sup>△</sup>

(安徽省界首市中医院, 安徽 阜阳 236600)

**摘要:**目的 建立十一味定喘口服液的质量控制方法。方法 采用薄层色谱法对制剂中桑白皮、麻黄、甘草进行定性鉴别;采用高效液相色谱法测定制剂中黄芩苷的含量,色谱柱为依利特 Hypersil ODS2 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-0.1%磷酸水溶液(47:53, V/V),流速为 1.0 mL/min,检测波长为 280 nm,柱温为 30 °C,进样量为 10 μL。结果 薄层色谱图中斑点清晰,且阴性对照无干扰。黄芩苷的质量浓度在 0.009 865~0.157 800 mg/mL 范围内与峰面积线性关系良好( $r=0.999 8, n=5$ );精密性、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 2.0%;平均加样回收率为 99.25%,RSD 为 0.74%( $n=6$ )。根据黄芩苷转移率,暂定含量限度为不低于 2.57 mg/mL。结论 该方法专属性强、准确度高、重复性好,可用于十一味定喘口服液的质量控制。

**关键词:**十一味定喘口服液;薄层色谱法;高效液相色谱法;黄芩苷;质量控制

## Quality Control of Shiyiwei Dingchuan Oral Liquid

REN Ying, SUN Zhiqing, LI Zhi, WANG Xinrui, LI Qiao

(Jieshou County Hospital of Traditional Chinese Medicine, Fuyang, Anhui, China 236600)

**Abstract: Objective** To establish the quality control method of Shiyiwei Dingchuan Oral Liquid. **Methods** Thin-layer chromatography (TLC) method was used for qualitative identification of Mori Cortex, Ephedrae Herba, Glycyrrhizae Radix et Rhizoma. High-performance liquid chromatography (HPLC) method was used for the content determination of baicalin in the preparation, the chromatographic column was Yilite Hypersil ODS2 column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol-0.1% phosphoric acid solution (47:53, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 280 nm, the column temperature was 30 °C, and the injection volume was 10 μL. **Results** The TLC spots were clear, and the negative control has no interference. The linear range of baicalin was 0.009 865-0.157 800 mg/mL ( $r=0.999 8, n=5$ ). The RSDs of precision, stability, and repeatability test results were all lower than 2.0%. The average recovery of baicalin was 99.25% with an RSD of 0.74% ( $n=6$ ). According to the transfer rate of baicalin, the content limit of baicalin was set as no less than 2.57 mg/mL. **Conclusion** The method is specific, accurate, and reproducible, which can be used for the quality control of Shiyiwei Dingchuan Oral Liquid.

**Key words:** Shiyiwei Dingchuan Oral Liquid; TLC; HPLC; baicalin; quality control

十一味定喘口服液为我院呼吸与危重症科针对痰热内蕴、风寒外束之哮喘等拟订的方剂,清痰热,外散风寒,宣降肺气而平哮喘,具有宣肺降气、清热化痰功效。方中,黄芩性寒,味苦,主归肺经,具有清热燥湿、泻火解毒功效。药理学研究表明,黄芩苷具有显著的抗呼吸道合胞病毒<sup>[1-2]</sup>、抗氧化<sup>[3-4]</sup>、抑菌<sup>[5-6]</sup>和抗炎活性<sup>[7]</sup>。为有效控制其质量,保证治疗效果,本研究中建立了桑白皮、麻黄、甘草的薄层色谱鉴别法,并采用高效

液相色谱法测定黄芩苷的含量。现报道如下。

### 1 仪器与试剂

#### 1.1 仪器

Alliance e2695型高效液相色谱仪(沃特世科技有限公司),配有紫外检测器;225D-1CN型分析天平(德国赛多利斯公司,精度为0.01 mg);硅胶G板(青岛海洋化工厂分厂,烟台江友硅胶开发有限公司);ZF-2型三用紫外仪(上海金鹏分析仪器有限公司);KQ-400E

\*基金项目:安徽省红十字会2022年度中医药传承创新发展研究项目[2022ZYD26]。

第一作者:任莹,女,硕士研究生,副主任中药师,研究方向为制剂分析与质量控制,(电子信箱)jyyuniteforever@126.com。

<sup>△</sup>通信作者:李乔,男,硕士研究生,副主任医师,研究方向为呼吸与危重症疾病的诊治,(电子信箱)309037661@qq.com。

中西医杂志,2002,11(13):1224.  
[22] 丁佩兰,蒋司嘉,乔春峰,等. 苦参碱和氧化苦参碱的分离纯化以及山豆根药材的薄层色谱鉴别[J]. 中国药学杂志, 2004,39(5):20-22.  
[23] 王婷. 5'-脱氧腺苷衍生物的合成与生物活性研究[D]. 大连:辽宁师范大学,2007.  
[24] 令红艳. 不同板蓝根制剂腺苷含量测定及其抗炎作用比较[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(11):143-145.  
[25] 张汉明,张戈,乔传卓. 板蓝根和大青叶不同部位的靛蓝、靛玉红含量测定及其部分成分的抗内毒素作用比较[J]. 药学实践杂志,2000,18(5):347.  
(收稿日期:2023-01-30;修回日期:2023-04-26)

型旋钮式超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率为1 200 W,频率为40 kHz)。

## 1.2 试药

麻黄对照药材(批号为121051-201606),桑白皮对照药材(批号为121124-202109),甘草对照药材(批号为120904-202021),黄芩苷对照品(批号为110715-202122,纯度为94.2%),均购自中国食品药品检定研究院;黄芩饮片(亳州沪谯药业有限公司,批号为2201140102);甲醇(色谱纯,美国天地有限公司);水为超纯水(实验室自制);磷酸(色谱纯);甲醇、碳酸钠、盐酸、乙酸乙酯、氨水、三氯甲烷、无水乙醇、正丁醇、冰醋酸、茛三酮、乙醚、二氯甲烷、硫酸均为分析纯;十一味定喘口服液(医院制剂,批号分别为22062301,22062401,22062501)。

## 2 方法与结果

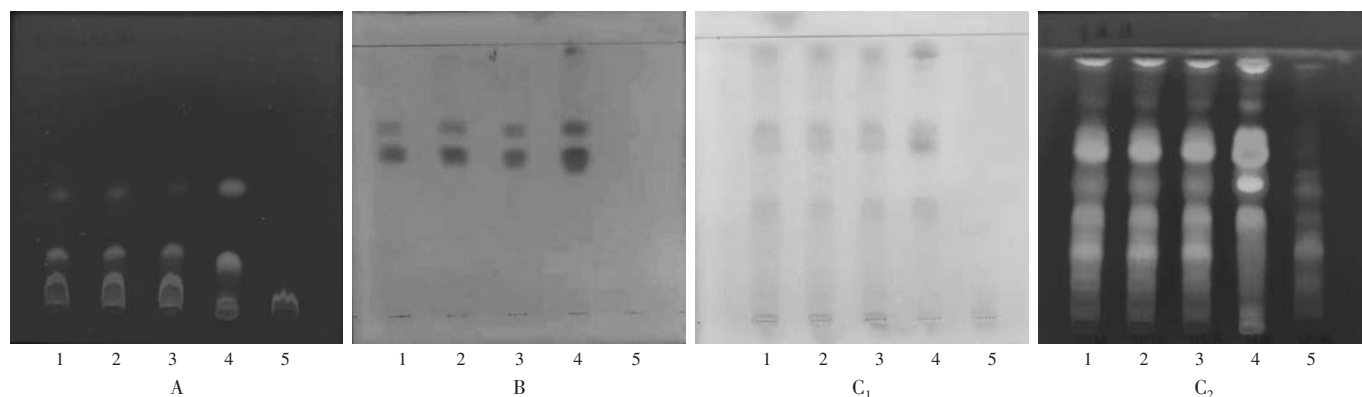
### 2.1 薄层色谱鉴别

桑白皮<sup>[8-9]</sup>:取3批(批号分别为22062301,22062401,22062501)样品各10 mL,置蒸发皿中,水浴浓缩至近干,加饱和碳酸钠溶液20 mL,超声处理30 min,滤过,滤液加稀盐酸调pH至1~2,静置30 min,加乙酸乙酯振摇提取2次,每次10 mL,合并乙酸乙酯液,水浴挥干,以1 mL甲醇溶解,作为供试品溶液。按处方工艺制备缺桑白皮的阴性样品,取10 mL,同法制备缺桑白皮的阴性对照品溶液。取桑白皮对照药材2 g,同法制备桑白皮对照药材溶液。按2020年版《中国药典(四部)》通则0502 薄层色谱法,取供试品溶液、阴性对照品溶液、对照药材溶液各10 μL,点于同一硅胶G板,用石油醚(60~90℃)-乙酸乙酯(6:4,V/V)展开,105℃下加热2 min显色清晰,立即置紫外光灯(365 nm)下检视。供试

品溶液色谱中,在与桑白皮对照药材溶液色谱相应位置显相同斑点,且阴性对照无干扰。详见图1 A。

麻黄<sup>[10]</sup>:取3批(批号分别为22062301,22062401,22062501)样品各10 mL,加浓氨试液10滴,以三氯甲烷萃取2次,每次加三氯甲烷15 mL,分取三氯甲烷层并合并,水浴蒸干,加无水乙醇2 mL使溶解,即得供试品溶液。按处方工艺制备缺麻黄的阴性样品,取10 mL,同法制备缺麻黄的阴性对照品溶液。取麻黄对照药材1 g,加浓氨试液10滴,加三氯甲烷10 mL,水浴回流1 h,滤过,取三氯甲烷液,蒸干,加无水乙醇3 mL使溶解,即得对照药材溶液。按2020年版《中国药典(四部)》通则0502 薄层色谱法,取供试品溶液、对照药材溶液、阴性对照品溶液各10 μL,点于同一硅胶G板,用正丁醇-冰醋酸-水(4:1:1,V/V/V)展开,喷以茛三酮试液,105℃加热至斑点显色清晰,日光下检视。供试品溶液色谱中,在与麻黄对照药材溶液色谱相应位置显相同斑点,且阴性对照无干扰。详见图1 B。

甘草<sup>[11]</sup>:取3批(批号分别为22062301,22062401,22062501)样品各10 mL,加乙醚萃取3次,每次10 mL,弃去乙醚液,水层用正丁醇萃取3次,每次20 mL,合并正丁醇液,用水洗涤3次,每次60 mL,弃去水液,正丁醇液蒸干,加甲醇3 mL使溶解,即得供试品溶液。按处方工艺制备缺甘草的阴性样品,取10 mL,同法制备缺甘草的阴性对照品溶液。取甘草对照药材1 g,加乙醚40 mL,水浴回流1 h,滤过,药渣加甲醇30 mL,水浴回流1 h,滤过,取甲醇液,蒸干,残渣加水40 mL使溶解,加正丁醇萃取3次,每次20 mL,合并萃取后的正丁醇液,再用等体积(60 mL)水洗涤3次,将洗涤后的正丁醇液蒸干,加甲醇3 mL使溶解,即得对照药材溶液。按2020年版《中



1-3. 供试品溶液(批号分别为22062301,22062401,22062501) 4. 对照药材溶液 5. 阴性对照品溶液(分别缺桑白皮、麻黄、甘草)  
A. 桑白皮(365 nm) B. 麻黄(日光) C<sub>1</sub>. 甘草(日光) C<sub>2</sub>. 甘草(365 nm)

图1 薄层色谱图

1-3. Test solution (batch numbers:22062301,22062401,22062501) 4. Reference medicinal solution 5. Negative Reference solution (lacking Mori Cortex,Ephedrae Herba,and Glycyrrhizae Radix and Rhizoma respectively)  
A. Mori Cortex (365 nm) B. Ephedrae Herba (sunlight) C<sub>1</sub>. Glycyrrhizae Radix and Rhizoma (sunlight) C<sub>2</sub>. Glycyrrhizae Radix and Rhizoma(365 nm)

Fig.1 TLC chromatograms

国药典(四部)》通则 0502 薄层色谱法,取供试品溶液、对照药材溶液、阴性对照品溶液各 10  $\mu\text{L}$ ,点于同一硅胶 G 板,用二氯甲烷-甲醇-水(40:10:1, V/V/V)展开,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,热风吹或 105  $^{\circ}\text{C}$  加热至斑点显色清晰,分别于日光和紫外光灯(365 nm)下检视。供试品溶液色谱中,在与甘草对照药材溶液色谱相应位置显相同斑点,且阴性对照无干扰。详见图 1 C<sub>1</sub> 和图 1 C<sub>2</sub>。

## 2.2 高效液相色谱法测定黄芩苷含量

### 2.2.1 色谱条件与系统适用性试验<sup>[12-14]</sup>

色谱柱:依利特 Hypersil ODS2 柱(250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ );流动相:甲醇-0.1% 磷酸水溶液(47:53, V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:280 nm;柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ ;进样量:10  $\mu\text{L}$ 。理论板数按黄芩苷峰计应不低于 3 000。

### 2.2.2 溶液制备<sup>[15-18]</sup>

取黄芩苷对照品适量,精密称定,置容量瓶中,加甲醇溶解并定容,制成每 1 mL 含 70  $\mu\text{g}$  的溶液,即得对照品溶液。精密量取样品 2 mL,置 100 mL 容量瓶中,加甲醇定容,混匀,滤过,即得供试品溶液。按样品制备工艺制备缺黄芩的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备缺黄芩的阴性对照品溶液。

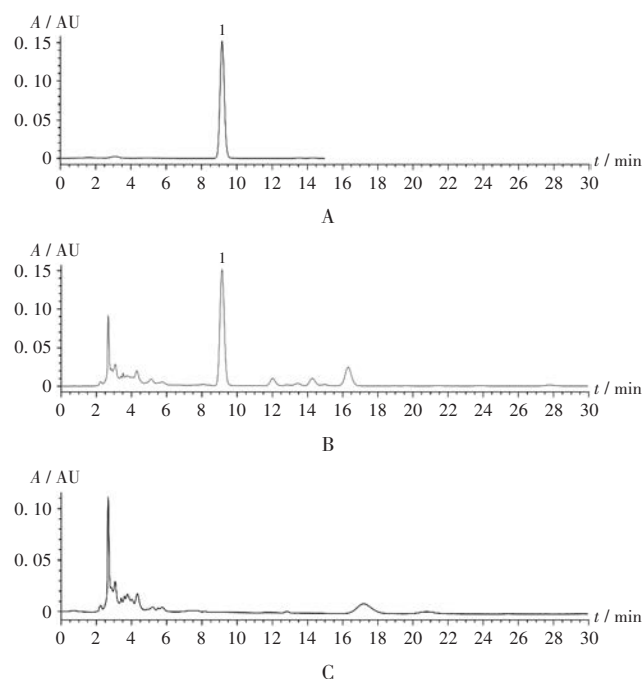
### 2.2.3 方法学考察

专属性试验:精密吸取 2.2.2 项下对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液各 10  $\mu\text{L}$ ,按 2.2.1 项下色谱条件进样测定。供试品溶液色谱图中,黄芩苷峰分离度良好,阴性对照无干扰,表明方法专属性良好。色谱图见图 2。

线性关系考察<sup>[19-20]</sup>:取质量浓度为 0.789 mg/mL 的黄芩苷对照品溶液,逐级稀释,得质量浓度分别为 0.157 8, 0.078 9, 0.039 45, 0.019 73, 0.009 865 mg/mL 的系列对照品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件分别进样测定,以黄芩苷的质量浓度( $X$ , mg/mL)为横坐标、峰面积( $Y$ )为纵坐标进行线性回归,得回归方程  $Y = 3.480 8 \times 10^7 X - 6.573 8 \times 10^4$ ,  $r = 0.999 8$  ( $n = 5$ )。结果表明,黄芩苷的质量浓度在 0.009 865 ~ 0.157 800 mg/mL 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:取质量浓度为 78.9  $\mu\text{g}$ /mL 的对照品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件连续进样测定 5 次,记录峰面积,并计算含量。结果黄芩苷峰面积的  $RSD$  为 0.17% ( $n = 5$ ),表明仪器精密度良好。

重复性试验:取样品(批号为 22062301)6 份,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算含量。结果样品中黄芩苷的平均含量为 3.854 mg/mL,  $RSD$  为 0.50% ( $n = 6$ ),表明方法重复性良好。



1. 黄芩苷  
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. Baicalin

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

Fig. 2 HPLC chromatograms

稳定性试验:取样品(批号为 22062301),按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液。分别于配制后 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 时按 2.2.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算含量。结果黄芩苷峰面积的  $RSD$  为 0.98% ( $n = 6$ ),表明供试品溶液放置 24 h 内稳定性良好。

加样回收试验:取样品(批号为 22062301)6 份,分别精密吸取 1.00 mL,置 100 mL 容量瓶中,分别精密加入质量浓度为 0.843 3 mg/mL 的黄芩苷对照品溶液 5 mL,加甲醇定容,摇匀,滤过,取滤液。按 2.2.1 项下色谱条件进样测定,并计算加样回收率。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(mL)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	$RSD$ (%)
1.00	3.854	4.216 5	8.080 9	100.25		
1.00	3.854	4.216 5	8.013 8	98.66		
1.00	3.854	4.216 5	7.992 6	98.15		
1.00	3.854	4.216 5	8.049 0	99.49	99.25	0.74
1.00	3.854	4.216 5	8.045 4	99.40		
1.00	3.854	4.216 5	8.051 2	99.54		

### 2.2.4 样品含量测定及限度确定

取黄芩饮片(批号为 2201140102),按 2020 年版《中国药典(一部)》黄芩饮片项下方法测定黄芩苷含量为 11.92%。取 3 批(批号分别为 22062301, 22062401,

22062501)样品,按2.2.1项下色谱条件进样测定,计算得样品中黄芩苷含量分别为3.82,3.83,3.82 mg/mL。十一味定喘口服液每1 mL含黄芩饮片0.084 g,按投料的黄芩饮片计算,每1 mL含黄芩苷10.01 mg。根据3批样品的实测含量,计算转移率为38.16%~38.26%,差异不大,表明工艺较稳定。2020年版《中国药典(一部)》规定,按干燥品计算,黄芩饮片中含黄芩苷( $C_{21}H_{18}O_{11}$ )应不低于8.0%(80 mg/g),故成品含量不低于2.57 mg/mL。综合考虑,暂定黄芩苷含量不低于2.57 mg/mL。

### 3 讨论

#### 3.1 薄层色谱鉴别药味与对照药材选择

十一味定喘口服液由麻黄、炒白果、蜜桑白皮、黄芩等11味中药材组方,其中白果、苦杏仁、酸枣仁、紫苏子、款冬花等药味暂无合适的薄层色谱鉴别方法。桑白皮、麻黄、甘草、黄芩的薄层色谱鉴别方法的专属性较好,故薄层色谱中仅对桑白皮、麻黄、甘草进行定性鉴别。中药复方制剂中各药味定性鉴别难度较高,需尝试多种方法,消耗大量对照品和(或)对照药材,本研究中均采用价格相对低廉且能提供更多鉴别信息的对照药材为参照物,以降低检验研发的成本。

#### 3.2 含量测定指标成分选择

方中,麻黄疏散风寒、宣肺平喘,白果敛肺定喘,两药配伍,敛收结合,既能增强平喘之功,又可宣肺而不耗气,敛肺而不留邪,共为君药;桑白皮泻肺平喘,黄芩清热化痰,两药配伍,可消内蕴之痰热,共为臣药。参考2020年版《中国药典(一部)》,麻黄含量测定成分为盐酸麻黄碱和伪麻黄碱,需用特殊色谱柱且损耗较快,流动相配制烦琐,检测成本较高,故选用操作简便、分离效果好的薄层色谱法进行定性鉴别;2020年版《中国药典(一部)》中无白果的含量测定方法。故未选择麻黄、白果进行含量测定。臣药黄芩的有效成分黄芩苷较稳定,4℃密封储存1年的峰面积变化不大,故选择黄芩苷作为含量测定的指标成分。

#### 3.3 色谱条件选择

黄芩苷在甲醇中溶解度较小,故配制对照品溶液时浓度不宜过大,必要时可进行超声处理。采用高效液相色谱法对黄芩苷进行定量时,以甲醇-水为流动相时的色谱峰对称度较差,换为0.1%磷酸水溶液后色谱峰峰形明显改善。

#### 3.4 方法评价

本研究中建立的方法操作简便、重复性好、准确度高,可用于十一味定喘口服液的质量控制。含量限度暂定为不低于2.57 mg/mL。仅以3批制剂计算转移率,批

次较少,结果有一定局限性,后期可收集更多批次的样品,扩大检测样本量,制订更合理的含量限度。

#### 参考文献

- [1] 张沛,彭洪军,高春林,等. 黄芩苷对呼吸道合胞病毒感染大鼠I型干扰素及SOCS1/3表达的影响[J]. 中华中医药杂志,2018,33(1):328-332.
- [2] 詹铀超,秦笙,陈富. 黄芩苷抗呼吸道合胞病毒作用的研究[J]. 国际检验医学杂志,2017,38(14):1907-1909.
- [3] 吕品,尹亚娟,张丹丹,等. 黄芩苷通过降低活性氧生成抑制血管平滑肌细胞伪足形成和迁移[J]. 中国生物化学与分子生物学报,2017,33(1):51-57.
- [4] 周颖璐,高琛,姜忠玲,等. 黄芩苷对热应激小鼠卵巢氧化损伤的保护作用[J]. 中国兽医杂志,2018,54(1):21-24.
- [5] 周清. 黄芩苷的抗结核分枝杆菌作用机制的研究[D]. 天津:天津医科大学,2012.
- [6] 刘昊,赵自冰,吴丹丹,等. 黄芩苷对大肠杆菌细胞通透性的影响[J]. 中国畜牧兽医,2017,44(1):1890-1894.
- [7] 张业昊,苗兰,张鹏,等. 黄芩苷对缺氧复氧损伤的人脑微血管内皮细胞炎症反应及TLR4/NF- $\kappa$ B信号通路的影响[J]. 中国中药杂志,2020,45(19):4686-4691.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:311.
- [9] 程龙. 止咳平喘颗粒的质量标准及药效学研究[D]. 北京:中国农业科学院,2014.
- [10] 嵇文明,吴观根,郑金水,等. 痰喘平口服液工艺及质量标准实验研究[J]. 中草药,1990,21(1):14-15.
- [11] 李湘平,袁槎樑,李汶. 薄层色谱法定性鉴别胃可舒片中的陈皮、甘草、木香[J]. 中国医药指南,2014,12(10):51-53.
- [12] 孙玉滨,赵昱玮,杨航,等. 紫金颗粒中黄芩苷和绿原酸的含量测定研究[J]. 中国医药科学,2018,8(19):61-64.
- [13] 杨巧虹,邓开英,申丽莎. 高效液相色谱法测定射麻口服液中黄芩苷含量[J]. 中国药业,2021,30(15):65-67.
- [14] 蒋宇,刘华荣. 黄连上清片中黄芩的薄层鉴别与黄芩苷的含量测定[J]. 海峡药学,2018,30(7):61-62.
- [15] 林梦,蒋斌,张华峰,等. 高效液相色谱法测定大黄滴眼中黄芩苷含量[J]. 中国药业,2018,27(22):37-39.
- [16] 李娜,秦松,高海燕. HPLC法测定双黄连合剂中黄芩苷含量[J]. 中国卫生工程学,2018,17(2):256-257.
- [17] 胡翔. 参芪首乌颗粒质量标准研究[J]. 安徽医药,2018,22(5):819-821.
- [18] 戴碧鑫,董碧莲,蔡延渠,等. 黄芩原药材、药渣的黄芩苷含量测定及体外抗菌活性研究[J]. 广州中医药大学学报,2020,37(4):722-725.
- [19] 徐静娟,栗金权. 高效液相色谱法测定健儿消食口服液中黄芩苷含量[J]. 海峡药学,2019,31(10):89-90.
- [20] 付恩桃,李会婷,汤洁,等. 不同提取方法对金匱肾气片中丹皮酚、黄芩苷含量的影响[J]. 广州化工,2021,49(6):77-79.

(收稿日期:2022-11-12;修回日期:2023-05-07)