

甘菊滴丸的质量控制及稳定性考察

兰燕宇, 郑林, 黄勇, 王爱民, 李勇军, 王永林*

(贵阳医学院药学院, 贵州省药物制剂重点实验室, 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 建立甘菊滴丸的质量控制方法并考察其在加速和室温条件下的稳定性。方法: 采用薄层色谱法鉴别甘菊滴丸中的主要药材甘草和羊耳菊; 采用高效液相色谱法测定甘草酸的含量。结果: 3 批甘菊滴丸中试样经 3 个月加速试验和 24 个月长期试验考察, 各项指标均符合质量标准要求。结论: 甘菊滴丸质量可控, 稳定性好。

[关键词] 甘菊滴丸; 稳定性; 薄层色谱; 高效液相色谱; 甘草酸

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)01-0099-04

Quality Control and Stability of Ganju Dropping Pills

LAN Yan-yu, ZHENG Lin, HUANG Yong, WANG Ai-min, LI Yong-jun, WANG Yong-lin*

(College of Pharmacy, Guiyang Medical University, Guizhou Provincial Key Laboratory of Pharmaceutical Preparation, Guiyang 550004, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the quality control method and study the stability of Ganju dropping pills at accelerated testing and room temperature. **Method:** Radix Glycyrrhizae and Inula cappa in the pills were identified by TLC. The content of glycyrrhizic acid was determined by HPLC. **Result:** After the accelerated testing and the long-term testing, various indexes of 3 pilot test samples accorded with the quality standard of Ganju dropping pills. **Conclusion:** Ganju dropping pills are stable and controllable in quality, excellent in stability.

[Key words] Ganju dropping pills; stability; TLC; HPLC; glycyrrhizic acid

甘菊滴丸是在传统民间验方基础上, 采用现代大孔吸附树脂技术和滴丸技术研制开发的中药新药, 由甘草、羊耳菊等多味中药组成, 具有解毒定痛、化腐生肌、消肿止痛之功效, 临床上主要用于治疗复发性口腔溃疡, 现已获得药物临床试验批件(2009L00475), 进入 II 临床试验。为保证临床应用的安全有效, 本试验参照有关文献^[1-2], 制定了甘菊滴丸中甘草和羊耳菊的薄层色谱鉴别方法, 采用高效液相色谱法测定了甘草中有效成分甘草酸的含量, 并对制剂的稳定性进行了考察。

1 仪器与试剂

LC-10Avp 高效液相色谱仪(日本岛津), WD-A 型药物稳定性检查仪(天津药典标准仪器厂), 甘草对照药材(批号 120904-200200410)、甘草酸铵对照品(批号 110731-200306, 以甘草酸计 91.23%)、甘草苷对照品(批号 111610-200503)均购至中国药品生物制品检定所, 3, 4-O-二咖啡酰基-奎宁酸对照品(由贵阳医学院药物研究开发中心从羊耳菊药材中制备, HPLC 归一化法测定其纯度为 98.01%), 乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯, 硅胶 G 预制板(青岛海洋化工厂), 甘菊滴丸由贵州省药物制剂重点实验室提供(批号 20070505, 20070510, 20070515)。

2 方法与结果

2.1 薄层鉴别^[3-4]

2.1.1 甘草的薄层鉴别 取本品 1 g, 加水 20 mL, 微热溶解, 离心, 分取上清液, 加乙酸乙酯 20 mL 振荡提取, 静置分层, 取下层水溶液, 以稀盐酸调节 pH 3, 用正丁醇振荡提取 2 次, 每次 15 mL, 合并正丁醇

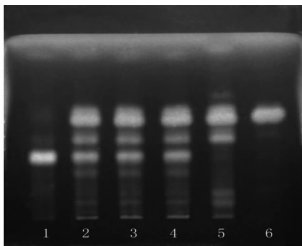
[收稿日期] 20120716(003)

[基金项目] 贵州省中药现代化科技产业研究开发基金项目(黔科合社字[2009]5011号); 贵阳市科学技术计划项目([2010]筑科农合同字第 1-中-10 号)

[第一作者] 兰燕宇, 教授, 从事中药质量控制研究, Tel: 0851-6908468, E-mail: yangu626@126.com

[通讯作者] * 王永林, 教授, 从事中药新药研究开发, Tel: 0851-6908899, E-mail: gywyl@gmc.edu.cn

液,蒸干,残渣加乙醇 2 mL 使溶解,通过中性氧化铝柱(100~200 目,6 g,内径 10~15 mm),用氯仿 50 mL 洗脱,弃去氯仿洗脱液,再用 50% 乙醇 80 mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加乙醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取甘草对照药材 1 g,加水 20 mL,加热回流 1 h,滤过,滤液同供试品溶液制备方法制得对照药材溶液。再取甘草苷对照品,加乙醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。再配制不含甘草药材的样品,按照供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B)试验,吸取上述溶液各 5 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,使成条带状,以乙酸乙酯-甲醇-水-冰醋酸(5:0.3:0.5:0.3)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点清晰,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位置上,显相同颜色的荧光条斑。见图 1。

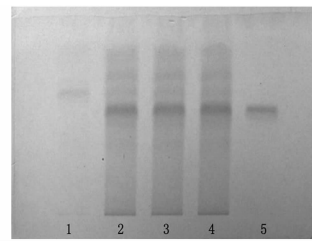


1. 阴性样品;2~4. 供试品溶液;5. 甘草对照药材;6. 甘草苷对照品
图 1 甘草 TLC

2.1.2 羊耳菊的薄层鉴别 取本品 0.2 g,加水 20 mL,微热溶解,以稀盐酸调节 pH 3,用正丁醇 20 mL 提取,分取正丁醇液,用水 10 mL 洗涤;弃去水洗液,正丁醇液蒸干,残渣加乙醇 2 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取 3,4-*O*-二咖啡酰基-奎宁酸对照品,用乙醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液,作为对照品溶液。再配制不含羊耳菊药材的样品,按照供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B)试验,吸取上述溶液各 5 μ L,分别点于同一聚酰胺薄膜上,使成条带状,以丙酮-水-甲酸(6:4:0.5)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 三氯化铁乙醇溶液,热风吹至斑点清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应位置上,显相同颜色的条斑,阴性对照无干扰。见图 2。

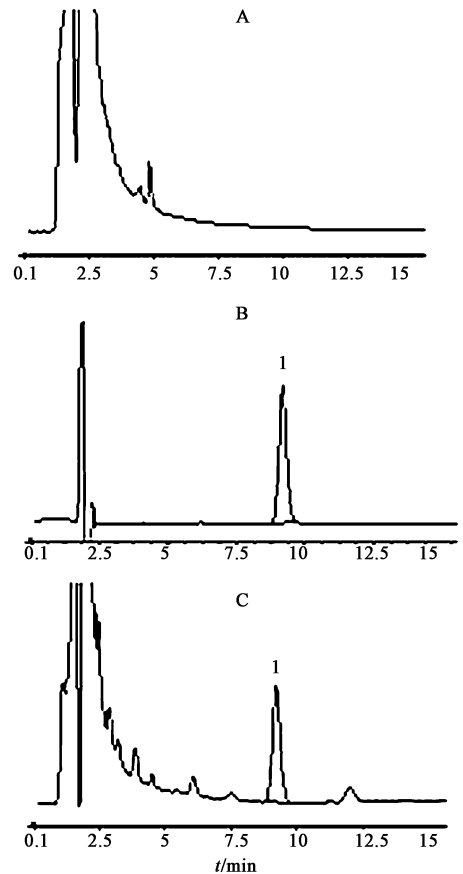
2.2 甘草酸的含量测定^[5-6]

2.2.1 色谱条件 Hypersil C₁₈ 色谱(4.6 mm \times 150 mm,5 μ m),流动相乙腈-1% 乙酸(33:67),流速 1 mL \cdot min⁻¹,检测波长 250 nm,进样体积 10 μ L,保留



1. 阴性样品;2~4. 供试品溶液;5. 3,4-*O*-二咖啡酰基-奎宁酸对照品
图 2 羊耳菊 TLC

时间约 9 min。在此色谱条件下,甘草酸与相邻的杂质峰分离完全,阴性对照无干扰,图 3。



1. 甘草酸;A. 阴性对照;B. 对照品;C 供试品

图 3 甘菊滴丸 HPLC

2.2.2 溶液的制备 取本品 6 丸,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加 50% 乙醇约 40 mL,超声处理 10 min,放冷,加 50% 乙醇至刻度,摇匀,用 0.45 μ m 滤膜滤过,即得供试品溶液;另按处方比例照制备工艺制得缺甘草药材的阴性样品,按供试品制备方法操作,即得阴性对照品溶液。

2.2.3 线性关系考察 精密称取甘草酸铵对照品(含甘草酸 91.23%)适量,加 50% 乙醇配制成每 1 mL 含甘草酸 1.025 mg 的对照品溶液,精密量取对照品储备液 0.5,1,1.5,2,2.5,3 mL,分别置 25 mL 量瓶,加 50% 乙醇稀释至刻度,进样测定,以对照品

浓度为横坐标,峰面积值为纵坐标,计算得回归方程为 $Y = 3\ 661\ 394X - 1\ 366$ ($r = 0.999\ 9$),线性范围为 $0.041 \sim 0.12\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.2.4 精密度试验 精密吸取同一浓度对照品溶液 $10\ \mu\text{L}$,注入液相色谱仪,连续进样6次,测定甘草酸峰面积,RSD 1.12%,结果表明仪器精密度良好。

2.2.5 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别在0,2,4,6,8,10 h,按2.2.1项下色谱条件各进样1次,每次 $10\ \mu\text{L}$,结果甘草酸平均峰面积为285 995,RSD 1.53% ($n = 6$),表明样品溶液在10 h内稳定。

2.2.6 重复性试验 取同一供试品,按2.2.2项下方法处理,按2.2.1项下色谱条件测定甘草酸含量,平行测定6次,结果甘草酸平均含量为1.27%,含量RSD 1.37%。

2.2.7 加样回收试验 精密称取已测定含量的供试品(含量为1.27%)6份,分别加入甘草酸对照品,按2.2.2项下方法处理,按2.2.1项下色谱条件测定,结果见表1。

表1 甘草酸加样回收率试验

样品中 含量/mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
1.971	1.891	3.801	96.77		
1.878	1.891	3.819	102.64		
1.925	1.891	3.795	98.89	98.85	2.82
1.962	1.891	3.808	97.62		
1.894	1.891	3.816	101.64		
1.886	1.891	3.693	95.56		

2.2.8 样品测定 取3批中试样品,按照供试品溶液制备方法进行处理,分别制备供试品溶液,进样测定,分别计算甘草酸含量,分别为0.674,0.685,0.715 mg/丸。根据测定结果,暂定本品每丸含甘草以甘草酸($\text{C}_{42}\text{H}_{62}\text{O}_{16}$)计,不得少于0.55 mg。

2.3 稳定性考察^[7-8] 为考察甘菊滴丸的稳定性,根据《中国药典》原料药与药物制剂稳定性试验指导原则^[9],取模拟上市包装中试样品3批(20070505,20070510,20070515),进行加速试验和长期试验考察。

2.3.1 加速试验 取模拟上市包装样品,置 $(40 \pm 2)\ ^\circ\text{C}$ 、RH 20% \pm 5% 条件下贮藏,在0,1,2,3个月取样,照甘菊滴丸含量测定方法检测,3批样品中甘草酸的含量分别为0.674,0.681,0.670,0.667 mg/丸(批号20070505);0.685,0.678,0.676,0.681

mg/丸(批号20070510);0.715,0.721,0.707,0.711 mg/丸(批号20070515)。结果表明,经加速试验3个月考察,制剂中甘草酸含量无明显变化,且均能检出甘草和羊耳菊,符合质量标准要求。

2.3.2 长期试验 取模拟上市包装样品,置室温条件下贮藏,在0,3,6,12,18,24个月取样,照甘菊滴丸含量测定方法检测,3批样品中甘草酸的含量分别为0.674,0.678,0.676,0.669,0.665,0.662 mg/丸(批号20070505);0.685,0.694,0.691,0.686,0.671,0.673 mg/丸(批号20070515);0.715,0.717,0.724,0.712,0.722,0.709 mg/丸(批号20070515)。结果表明,经室温留样长期试验24个月考察,制剂中甘草酸含量无明显变化,且均能检出甘草和羊耳菊,符合质量标准要求。

3 讨论

采用TLC对甘菊滴丸中的甘草、羊耳菊两味药材进行定性鉴别,在薄层色谱中分别检出甘草、羊耳菊的特征斑点,斑点分离清晰,阴性对照无干扰,专属性强,重现性好,可作为甘菊滴丸制剂的有效鉴别方法。

采用HPLC测定制剂中甘草酸时,曾按《中国药典》2005年版一部中甘草酸的含量测定方法^[10],以甲醇-0.2 mol·L⁻¹乙酸铵溶液-冰醋酸(66:37:1)为流动相,但由于系统中使用了缓冲盐溶液,试验完毕后须清洗系统,操作烦琐,且清洗不彻底易析出盐结晶而造成系统堵塞。故将流动相简化为乙腈-1%乙酸(33:67),甘草酸与其他色谱峰分离完全,且峰形较好,系统稳定。

在甘菊滴丸稳定性试验中,除甘草和羊耳菊两味药材的薄层鉴别,以及甘草酸的含量测定外,还分别考察了外观性状、溶散时限、微生物限度,均符合质量标准要求,说明本品在24个月内质量稳定,直接接触药品的容器对药品质量无影响,故甘菊滴丸的有效期暂定为24个月。

[参考文献]

- [1] 陈祖云,迟明艳,兰燕宇. 贵州民族药羊耳菊活性成分提取工艺研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(8):7.
- [2] 陈云华,王文全. 甘草质量评价方法研究进展[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(6):1504.
- [3] 胡玉花,邓双炳,王成霞,等. 生化丸质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(7):125.
- [4] 姚波,杨树德,梁晓原. 羊耳菊的生药学研究[J]. 云南中医中药杂志, 2010, 31(9):39.

白洋淀芦根药材中阿魏酸 UPLC 含量测定

李洪¹, 张静¹, 王麟^{1*}, 姚东云¹, 高玉梅²

(1. 河北化工医药职业技术学院, 石家庄 050026; 2. 河北工程大学, 河北 邯郸 056002)

[摘要] 目的: 建立白洋淀芦根药材的 UPLC 含量测定方法。方法: 对 10 批白洋淀产的芦根药材采用 70% 甲醇为溶剂超声提取制备溶液, 应用 WATERS UPLC 超高效液相色谱仪, BEH C₁₈ 色谱柱, PDA 检测器进行测定。以乙腈-水为流动相进行梯度洗脱, 流速 0.1 mL·min⁻¹, 柱温 25 ℃, 检测波长 320 nm。结果: 阿魏酸在 0.038 ~ 0.38 μg 呈良好的线性关系 ($R^2 = 0.9999$)。白洋淀产芦根中阿魏酸的含量在 0.051% ~ 0.169%。结论: 建立的白洋淀芦根药材中阿魏酸的 UPLC 含量测定方法快速、高效, 为白洋淀芦根药材的质量控制提供了有效手段。

[关键词] 超高效液相色谱; 含量测定; 阿魏酸; 芦根; 白洋淀

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)01-0102-04

Determination of Ferulic Acid in Phragmitis Rhizoma Produced in Baiyangdian by UPLC

LI Hong¹, ZHANG Jing¹, WANG Lin^{1*}, YAO Dong-yun¹, GAO Yu-mei²

(1. Hebei Chemical and Pharmaceutical College, Shijiazhuang 050026, China;

2. Hebei University of Engineering, Handan 056002, China)

[Abstract] **Objective:** To establish UPLC determination method of Phragmitis Rhizoma in Baiyangdian. **Method:** Ten samples of Phragmitis Rhizoma in Baiyangdian from different place were extracted by 70% methanol with ultrasonic extractor. Sample solutions were determined by Waters UPLC equipped with BEH C₁₈ column and PDA detector, gradient eluted with acetonitrile-water as mobile phase. The flow rate was set to 0.1 mL·min⁻¹, while the column temperature was set at 25 ℃, and the wavelength for detection was set to 320 nm. **Result:** The standard curve was in good linearity over the range of 0.038-0.38 μg ($R^2 = 0.9999$). **Conclusion:** The method established is simple, accurate and can be used to control the quality of Phragmitis Rhizoma produced in Baiyangdian.

[Key words] UPLC; Phragmitis Rhizoma; content determination; ferulic acid

[收稿日期] 20120722(006)

[基金项目] 河北省中医药管理局科研计划项目(2008069)

[第一作者] 李洪, 教授, 硕士, 从事中药研究、药物新产品开发, Tel: 13373517398, E-mail: hzzj1981@163.com

[通讯作者] * 王麟, 助教, 硕士, 从事中药药物分析研究, Tel: 15930110307, E-mail: wanglin8457@yahoo.com.cn

[5] 杨先炯, 王爱民, 李勇军, 等. 高效液相色谱法测定珍珠滴丸中甘草酸含量[J]. 中国药业, 2008, 17(3): 12.

[6] 孟蕾, 曹杰, 张海鸣, 等. HPLC 法测定铁笛丸中甘草酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(4): 35.

[7] 谭燕珍. 益气维血颗粒的稳定性考察[J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27(5): 678.

[8] 张伟明, 李健和, 黎银波, 等. 甘草酸二铵注射液的研制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(6): 35.

[9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 二部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 附录 199.

[10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2005: 59.

[责任编辑 顾雪竹]