

文章编号 1006-8147(2016)02-0168-03

论 著

不同厂家及批次麻黄配方颗粒质量差异的研究

汪贤梅¹, 张志强², 唐方¹

(1. 天津医科大学总医院中医科, 天津 300052; 2. 天津红日药业股份有限公司, 天津 301700)

摘要 目的: 考察不同厂家及不同批次麻黄配方颗粒剂质量差异。方法: 采用红外光谱(FTIR)法明确麻黄颗粒剂与麻黄对照药材成分的相似度; 高效液相色谱法(HPLC)对其主要生物碱成分麻黄碱和伪麻黄碱进行含量测定, 分析柱: WondaSil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈-0.3%磷酸溶液(含0.05%三乙胺)(4:96, v:v), 流速: 1.0 mL·min⁻¹, 柱温: 30 ℃, 检测波长: 210 nm。结果: 不同厂家各批次麻黄配方颗粒与麻黄对照药材红外特征图谱的相似度≥92%; 不同品牌麻黄颗粒剂中, 麻黄碱和伪麻黄碱含量存在显著性差异($P<0.01$); 同厂家不同批次麻黄颗粒剂中麻黄碱和伪麻黄碱含量间存在差异, 有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$)。结论: 不同厂家、同厂家不同批次麻黄配方颗粒剂中麻黄碱和伪麻黄碱含量存在显著差异。

关键词 麻黄配方颗粒剂; 红外光谱; 高效液相色谱法; 麻黄碱; 伪麻黄碱

中图分类号 R92

文献标志码 A

Research on the quality differences of mahuang formula granules between different manufacturers and batches

WANG Xian-mei¹, ZHANG Zhi-qiang², TANG Fang¹

(1. Department of Traditional Chinese Medicine, General Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China; 2. Tianjin Chase Sun Pharmaceutical, Ltd., Tianjin 301700, China)

Abstract **Objective:** To compare qualities of mahuang formula particles from different manufacturers and batches. **Methods:** First of all, the similarity of contrast medicinal material and mahuang formula granules of different manufacturers was defined by using the FTIR fingerprint. Then content of ephedrine and d-pseudoephedrine in mahuang formula granules was determined with HPLC, chromatographic column was WondaSil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was V (methylecyanide):V (0.3% ammonium dihydrogen phosphate solution including 0.05% triethylamine)=4:96, flow rates was 1.0 mL·min⁻¹, the temperature was 30 ℃, and length of detection wave was 210 nm. **Results:** FTIR showed the similarity of all components between each sample and contrast medicinal material were higher than 92%. Comparison between different manufacturers, there were significant differences between ephedrine and d-pseudoephedrine ($P<0.01$); comparison of different batches of the same manufacturer, there were differences of ephedrine and d-pseudoephedrine, with statistical significance ($P<0.01$, $P<0.05$). **Conclusion:** The contents of ephedrine and d-pseudoephedrine of all samples from different manufacturers and different batches are significantly different.

Key words mahuang formula granules; FTIR; HPLC; ephedrine; d-pseudoephedrine

中药配方颗粒是一种有别于传统中药饮片的新剂型, 通过现代制药技术制成的单味中药制剂^[1]。目前我国批复试点生产中药配方颗粒的企业共6家, 均已具备独立的质量标准和工艺规范。该产品与传统饮片水煎剂相比, 其便于携带、储存、调配等优势, 正逐渐受到医疗市场的认可、推广与使用。但由于配方颗粒剂生产企业缺乏统一、规范化生产工艺及统一的质量标准, 导致同品种存在规格不一、等效剂量不一等问题。目前有5家企业生产的麻黄配方颗粒剂在医疗市场流通, 但尚未有对不同厂家及同厂家不同批次间样品比较的报道。本试验选取其中3个企业共6批次的麻黄配方颗粒剂, 通过红外

光谱技术对其进行定性鉴别, 并采用高效液相色谱法(HPLC)测定其主要有效成分麻黄碱和伪麻黄碱的含量, 以比较其存在的差异, 为产品质量控制提供依据, 也为不同品牌配方颗粒剂在临床中交互应用提供便利。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器 Spectrum Two IR(PerkinElmer公司); FW-5压片机(天津博天胜达科技发展有限公司); 岛津LC-2010AHT高效液相色谱仪【四元泵、SPD-10AVP紫外检测器、COT-10AVP柱温箱、WondaSil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)(岛津企业管理(中国)有限公司)】。

1.1.2 试药及试剂 盐酸麻黄碱对照品(批号:

作者简介 汪贤梅(1989-), 女, 硕士在读, 研究方向: 中药有效成分含量分析; 通信作者: 唐方, E-mail: zhongyi3599@sina.com。

171241-201007)、盐酸伪麻黄碱对照品(批号:171237-201208)由中国食品药品检定研究院提供;草麻黄对照药材(批号:121051-201005)由中国食品药品检定研究院提供。甲醇、乙腈均为色谱纯(赛默飞世尔科技(中国)有限公司),屈臣氏蒸馏水(广州屈臣氏食品饮料有限公司),其它试剂均为市售分析纯。麻黄配方颗粒剂分别购自天津红日康仁堂(KRT)药业销售有限公司,批号:14006411(KRT1)、14017809(KRT2);四川新绿色(LS)药业科技发展股份有限公司,批号:13070157(LS1)、14030117(LS2);江阴天江(TJ)药业有限公司,批号:1309118(TJ1)、1403125(TJ2)。样品基源均标注为草麻黄。

1.2 方法

1.2.1 FTIR (1)仪器参数:光谱范围 $4000\sim 400\text{ cm}^{-1}$,分辨率 4 cm^{-1} ,信号扫描累加次数4次,自动增益,自动大气背景扣除。(2)测定方法:取样品粉末(过9号筛)约1.5 mg加溴化钾200 mg,压片,待测。每个样品取样4次测定,求取其平均光谱进行数据分析。

1.2.2 HPLC

1.2.2.1 色谱条件及系统适用性^[2-6]:色谱柱:WondaSil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相:乙腈-0.3%磷酸溶液(含0.05%三乙胺)(4:96, v:v),流速:1.0 mL·min⁻¹,柱温:30 ℃,检测波长:210 nm。

1.2.2.2 对照品溶液制备:取盐酸麻黄碱对照品和盐酸伪麻黄碱对照品,精密称定,加甲醇制成1 mL约含盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱各40 μg的混合对照品溶液,备用。

1.2.2.3 供试品溶液制备:取麻黄配方颗粒剂粉末0.25 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入1.44%磷酸溶液50 mL,称定质量,超声处理(功率600 W,频率50 kHz)20 min,冷却,再称定质量,用1.44%磷酸溶液补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

1.2.2.4 专属性试验:分别取对照品溶液10 μL和供试品溶液5 μL,按照“1.2.2.1”项下色谱条件进样测定。

1.2.2.5 线性范围考察:精密吸取对照品贮备液分别以1、2、4、6、8、10、12、14、16 μL进样,按照“1.2.2.1”项下色谱条件进样测定。

1.2.2.6 精密度试验:取盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱混合对照品溶液,按照“1.2.2.1”项下色谱条件进样测定,连续进样6次,进样量10 μL,记录峰面积和保留时间。

1.2.2.7 重复性试验:取厂家KRT1麻黄配方颗粒剂粉末6份,按“1.2.2.3”项下方法制备供试品溶液,按照“1.2.2.1”项下色谱条件进样10 μL测定,记录

峰面积并计算含量。

1.2.2.8 稳定性试验:取厂家TJ1麻黄颗粒剂供试品溶液,按照“1.2.2.1”项下色谱条件,分别于0、2、4、6、8、12、24 h进样10 μL测定,记录峰面积和保留时间。

1.2.2.9 加样回收率试验:取已测知含量的厂家KRT1麻黄颗粒剂粉末6份,精密称定,分别精密加入一定量的盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱对照品溶液,按“1.2.2.3”项方法制备供试品溶液,按照“1.2.2.1”项下色谱条件,进样10 μL测定,记录峰面积并计算回收率。

1.2.2.10 样品含量测定:6批次麻黄配方颗粒剂,按“1.2.2.3”项方法制备供试品溶液,按照“1.2.2.1”项下色谱条件,各进样5 μL进行测定,记录峰面积并计算含量。

1.3 统计学方法 采用SPSS 18.0统计软件分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组内比较采用 t 检验,组间比较用单因素方差分析, $P<0.05$ 具有统计学意义。

2 结果

2.1 FTIR 结果 不同厂家、不同批次麻黄配方颗粒与草麻黄对照药材($r=1$)红外特征图谱相比较,相似度均不低于92%,即3个厂家麻黄配方颗粒剂在大生产过程中,其有效药用成分保留相对完整(图1)。

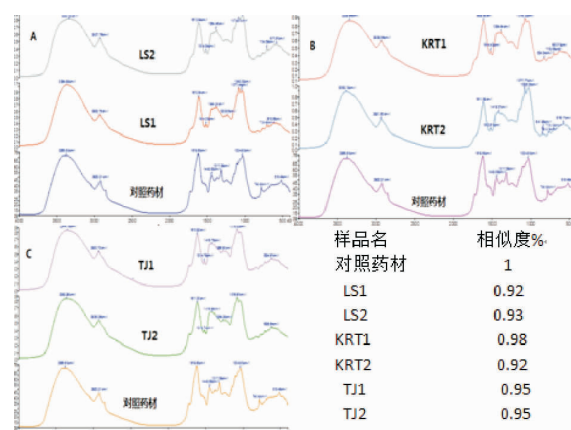


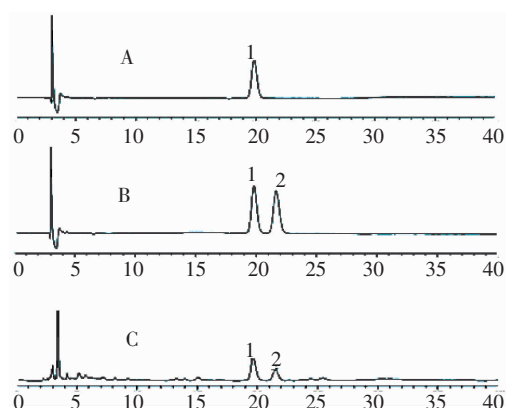
图1 配方颗粒剂与对照药材红外图谱比较

Fig 1 Comparison of IR fingerprint about formula particles and contrast medicinal material

2.2 HPLC

2.2.1 专属性试验结果 按照HPLC测定方法及相应浓度,绘制色谱图,见图2。由图可知,该色谱条件下,盐酸麻黄碱保留时间为19.726 min,盐酸伪麻黄

碱保留时间为 21.649 min,峰形良好,且与其他峰分离较好。



1.盐酸麻黄碱;2.盐酸伪麻黄碱

图 2 盐酸麻黄碱对照品(A)、混合对照品(B)及其样品(C)HPLC 图

Fig 2 HPLC chromatograms of reference substance (A), mixed reference substances (B) and sample(C)

2.2.2 线性范围考察结果 以进样量(X)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标,绘制标准曲线,得到盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的回归方程分别是: $Y=108\ 242X+2\ 046.2$ ($r=0.999\ 7, n=7$); $Y=104\ 371X+14\ 018$ ($r=0.999\ 9, n=7$)。表明盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱分别在 $0.05\sim 0.74\ \mu\text{g}$ 、 $0.04\sim 0.71\ \mu\text{g}$ 成良好的线性关系。

2.2.3 精密度试验结果 盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的保留时间的 RSD 分别是 0.76%和 0.83%,峰面积的 RSD 分别是 1.22%和 0.91%,均小于 2%,说明仪器的精密度良好。

2.2.4 重复性试验结果 盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱含量的 RSD($n=6$)分别是 1.01%和 0.65%,表明本方法重复性良好。

2.2.5 稳定性试验结果 盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的保留时间的 RSD 分别是 0.66%和 0.71%,峰面积的 RSD 分别为 0.22%和 0.52%($n=7$),表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.2.6 加样回收率试验结果 盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱平均回收率分别为 96.27%、103.37%,RSD 分别为 0.40%和 1.00%($n=6$)。

2.2.7 样品含量结果 如表 1 所示,不同品牌麻黄颗粒剂中,麻黄碱和伪麻黄碱含量存在显著性差异($P<0.01$);同厂家不同批次麻黄颗粒剂中麻黄碱和伪麻黄碱含量间存在差异,有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$)。

表 1 不同厂家及批次麻黄配方颗粒剂中麻黄碱和伪麻黄碱含量 ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)($n=4$)

Tab 1 The content of ephedrine and d-pseudoephedrine in mahuang formula granules from different factories and batches($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)($n=4$)

样品名	性状	麻黄碱含量	伪麻黄碱含量
LS1	棕褐色颗粒	28.22 ± 0.276^3	12.66 ± 0.007^3
LS2	棕黄色颗粒	$28.02\pm 0.014^{13)}$	$12.50\pm 0.021^{23)}$
KRT1	棕黄色颗粒	28.81 ± 0.000^3	14.12 ± 0.014^3
KRT2	棕黄色颗粒	$22.33\pm 0.007^{23)}$	$17.09\pm 0.021^{23)}$
TJ1	灰黄色颗粒	26.41 ± 0.113^3	8.89 ± 0.127^3
TJ2	灰棕色颗粒	$27.34\pm 0.057^{23)}$	$9.10\pm 0.071^{13)}$

同厂家不同批次比较,¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;不同厂家间比较,³⁾ $P<0.01$

3 讨论

本研究首先采用 FTIR 测定麻黄颗粒剂与对照药材成分的相似度,结果显示,3 个厂家 6 个批次麻黄配方颗粒与麻黄对照药材的红外特征图谱相似度 $\geq 92\%$,提示各厂家在药用有效成分保留上相对完整,且同一厂家不同批次麻黄颗粒剂红外特征图谱相似度比较相似度差异 $<10\%$,提示各厂家质量控制相对稳定。虽然麻黄配方颗粒保留了麻黄饮片的水煎液的物质基础,但仅以大生产过程中成分保留相对完整作为评价麻黄配方颗粒达到“全成分转移”的质控标准并不十分完善。

为此,在药用有效成分对比分析基础上,利用 HPLC 技术对不同厂家及批次麻黄配方颗粒样品进行了主成分含量比较。结果显示,不同厂家间及部分厂家不同批次间麻黄碱和伪麻黄碱含量均存在差异,这与文献报道^[7-8]由于工艺不同导致配方颗粒剂主成分含量存在显著性差异相吻合。另外,各厂家颗粒剂在外观性状上也存在差异。以上结果证实工艺间缺乏统一性、规范化标准是影响各厂家相同产品主成分含量不一,不同厂家同产品间难以交互通用的主要因素。提示以中药红外指纹图谱对配方颗粒成分结构给予的定性鉴别,与高效液相色谱法对配方颗粒主成分含量的定量分析相结合是完善质控标准,保证产品质量的必要措施。

2010 版《中国药典》收录的麻黄为草麻黄 *Ephedra sinica* Stapf、中麻黄 *Ephedra intermedia* Schrenk et C.A.Mey. 或木贼麻黄 *Ephedra equisetina* Bge.的干燥草质茎^[9],目前市售麻黄药材多把 3 种麻黄混同使用,以草麻黄为主。大量文献报道^[10-12],中药材的产地、种属等都会影响药物主成分含量。本课题前期研究结果证实:麻黄种属与主成分麻黄

(下转第 175 页)

3.4 不同溶出介质确定^[6] 日本于1998年推出《药品品质在评价工程》,其主要理念如下:药物主要在消化道吸收,由于人体内环境千差万别,故消化道内的体液pH值也各不相同。一个优良的药物,应不受pH值的影响,在各种环境下均能有所释放从而被吸收;而一个低品质药物,则可能只在一种pH值介质中释放,在其它pH值介质中就难有表现了。故本文同时考察药物在0.1 mol/L HCl、水、PBS4.5、PBS6.8 4种介质中的溶出度。

3.5 溶出度分析方法^[7] 固体药物制剂的体外溶出度数据是评价一种药物制剂不同品种、不同厂家产品、不同批次间质量的重要依据。在制剂的开发研究中,通过对比不同处方之间的溶出曲线,可以准确的反映药物处方、工艺、生产场地以及规模等因素变化对药物体外释放行为的影响。根据文献报道,比较体外溶出度曲线的方法一般有(1)方差分析法;(2)非模型依赖法;(3)模型依赖法。每一种又包括多种具体方法。其中非模型依赖法的 f_2 相似因子法可直接对释药数据进行统计分析,无需拟合各种释药速率,可灵敏、准确的反映制剂的体外溶出或释放曲线之间的差异,被FDA推荐为比较两条溶出曲线相似性的首选方法。当 $50 \leq f_2 \leq 100$ 时,表明制剂具有相似的体外溶出或释放特性。本试验采用 f_2 相似因子法进行复方胶囊中呋塞米、螺内酯体外溶出曲线的统计分析。

参考文献:

- [1] 王芳.利尿剂概述[J].临床肾脏病杂志,2011,10(11):484
- [2] 马艳华.呋塞米的临床新用途[J].黔南民族医学学报,1998(2):26
- [3] 张国胜.螺内酯的临床应用[J].健康大视野·医学分册,2007,2(2):23
- [4] 张芳,张兴元,张洁,等.醛固酮拮抗剂临床应用的研究[J].滨州医学院学报,2010,33(5):378
- [5] 贺秀玲.浅谈螺内酯的新用途[J].中外健康文摘,2011,8(23):286
- [6] Birbarl A E, Daouk M M, Mukaddam-daher S. Efficacy and safety of lasilactone, a new combination diuretic, in essential hypertension[J]. General Pharmacology, 1987, 18(6): 609
- [7] 张崧,王玲,屈凌波.福多司坦胶囊的制备及其处方优化[J].河南师范大学学报:自然科学版,2010,38(6):98
- [8] 张树生,赵山山.头孢呋辛酯胶囊的制备工艺[J].河北化工,2010,33(8):47, 60.
- [9] 侯国枝,田治科,张茹英,等.巴洛沙星胶囊的制备工艺及溶出度研究[J].中国药业,2009,18(12):53
- [10] 史银基,刘砥威,石雪,等.克拉霉素胶囊中粘合剂及用量的确定[J].新疆医学,2011,18(4):132, 140
- [11] 冯李文.均匀设计法及其在新产品开发中的应用[J].川化,2005,30(2):18
- [12] 郭东星,仇丽霞,张满栋.均匀设计法及其应用[J].数理医药学杂志,2005,18(1):69
- [13] 周涛.空心胶囊崩解时限的讨论[J].中国药事,2002,16(9):45
- [14] 郑琴,陈青阳,杨明,等.空胶囊的研究现状及解决中药胶囊吸潮问题的思考[J].江西中医学院学报,2007,19(6):74
- [15] 阳长明,侯世祥.药物溶出度研究进展[J].中成药,2000,22(7):53
- [16] 谢沐风,张启明,陈洁,等.国外药政部门采用溶出曲线评价口服固体制剂内在品质情况简介[J].中国药事,2008,22(3):257
- [17] 陈贤春,吴清,王玉蓉,等.关于溶出曲线比较和评价方法[J].中国医院药学杂志,2007,27(5):662

(2015-07-29 收稿)

(上接第170页)

碱、伪麻黄碱含量的变化呈显著正相关,且种属间存在极显著差异($P < 0.01$)。由此提示,制定配方颗粒剂相关企业统一的质控标准和工艺规范,是提高配方颗粒剂质量的重要措施。而科学规范地确认、选择药材资源亦是确保麻黄配方颗粒剂主成分含量相对稳定的又一重要措施。

参考文献:

- [1] 马露,邵利洁,唐方.厚朴配方颗粒药效学评价方法初探[J].中国中药杂志,2014,39(8):1490
- [2] 冯欣,周刚,王茜,等.HPLC法测定藏药五味甘露药浴颗粒中鞣皮素、山柰素和盐酸麻黄碱[J].中成药,2015,37(1):120
- [3] 刘睿,王宁,刘志辉.RP-HPLC同时测定宣肺止咳口服液中盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱及苦杏仁苷含量[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(16):91
- [4] 太成梅,那微,赵晓霞,等.HPLC法测定小儿肺热咳喘口服液中盐酸麻黄碱及盐酸伪麻黄碱的含量[J].中国药品标准,2010,11(5):380

- [5] 宋玉国,张新茹,李秀芬,等.HPLC测定清咳平喘颗粒中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J].中国现代中药,2014,16(4):319
- [6] 曾永长,张莉,曾晓燕,等.HPLC法测定馥感喉口服液中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J].中药新药与临床药理,2015,26(2):252
- [7] 蔡乐,刘萍,郭桂明,等.不同厂家茜草配方颗粒中大叶茜草素含量的比较[J].北京中医药,2011,30(11):856
- [8] 陈晓鹏,鄂秀辉,夏忠庭,等.HPLC法同时定量测定养血清脑颗粒中7个主要成分[J].中成药,2013,35(9):1921
- [9] 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,2010:300-301
- [10] 游元元,万德光,杨文字,等.HPLC法比较不同产地桑叶药材品质差异[J].中国药房,2010,12(35):3314
- [11] 盛萍,张立福,时晓娟,等.麻黄药材中麻黄碱含量与产地生态环境关系的初步研究[J].中医药信息,2014,2(2):1
- [12] 姜秋,李慧芬,梁晓,等.HPLC同时测定不同产地远志饮片中6种寡糖酯类成分[J].中成药,2015,37(2):360

(2015-09-20 收稿)