

# 复方甘草片 HPLC 指纹图谱及 7 成分测定

高小惠<sup>1</sup>, 胡燕琴<sup>1</sup>, 王洪静<sup>1</sup>, 李 宁<sup>1,2\*</sup>, 刘军锋<sup>1\*</sup>, 杨兆祥<sup>1</sup>

<sup>1</sup>昆药集团股份有限公司, 昆明 650100; <sup>2</sup>上海中医药大学中药研究所教育部中药标准化重点实验室, 上海 201203

**摘要:** 本文建立了复方甘草片的 HPLC 指纹图谱及吗啡、磷酸可待因、芹糖甘草苷、甘草苷、苯甲酸钠、异甘草苷、甘草酸 7 成分测定方法。采用 50% 甲醇水溶液对复方甘草片提取后, 用 HPLC-UV 法进行测定; 色谱条件为: Welch Ultimate AQ-C<sub>18</sub> 色谱柱 (5 μm, 4.6 mm × 250 mm); 乙腈-0.02 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH4.0) 为流动相, 梯度洗脱; 流速 1.0 mL/min; 检测波长 220、254 nm; 柱温 35 °C; 进样量 10 μL。采用国家药典委员会“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012 年版) 建立 18 批样品指纹图谱, 并同时测定 7 成分含量。结果显示 18 批复方甘草片指纹图谱相似度均大于 0.95, 共有 27 个共有峰, 通过与对照品对照保留时间鉴定了 14 个共有峰。吗啡、磷酸可待因、芹糖甘草苷、甘草苷、苯甲酸钠、异甘草苷、甘草酸在各自浓度范围内线性关系良好 ( $r > 0.999 0$ ), 平均加样回收率 94.73% ~ 104.45%, RSD 0.68% ~ 3.89%。本方法简便、快速、准确, 可用于复方甘草片的质量控制。

**关键词:** 复方甘草片; 指纹图谱; 含量测定; 质量控制

中图分类号: R963.3

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2020)5-0734-09

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2020.5.003

## HPLC fingerprints of compound liquorice tablets and determination of seven constituents

GAO Xiao-hui<sup>1</sup>, HU Yan-qin<sup>1</sup>, WANG Hong-jing<sup>1</sup>, LI Ning<sup>1,2\*</sup>, LIU Jun-feng<sup>1\*</sup>, YANG Zhao-xiang<sup>1</sup>

<sup>1</sup>KPC Pharmaceuticals, Inc, Kunming 650100, China;

<sup>2</sup>The MOE Key Laboratory for Standardization of Chinese Medicines, Institute of Chinese Materia Medica, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

**Abstract:** To establish an HPLC method to generate the fingerprints of compound liquorice tablets and to determine the contents of morphine, codeine phosphate, liquiritinapioside, liquiritin, sodium benzoic isoliquiritin and glycyrrhizic acid simultaneously. Compound liquorice tablets were extracted by 50% methanol and analyzed under the parameters as: column: Welch Ultimate AQ-C<sub>18</sub> column (5 μm, 4.6 mm × 250 mm); mobile phase: acetonitrile-0.02 mol/L phosphate buffer (pH4.0), gradient elution manner; flow rate: 1.0 mL/min; detection wavelength: 220 and 254 nm; column temperature: 35 °C injection volume: 10 μL. The chromatographic fingerprint evaluation system which was recommended by the State Pharmacopoeia Commission (2012 Edition) was used to establish the fingerprints of 18 batches of samples. The contents of the 7 chemical markers were determined simultaneously. The result showed that similarities of the 18 batches of samples were higher than 0.95, 27 peaks were assigned as the common peaks, and 14 peaks were identified by comparing their retention times with those of reference standards. Morphine, codeine phosphate, liquiritinapioside, liquiritin, sodium benzoic, isoliquiritin and glycyrrhizic acid showed good linear relationships within their own ranges ( $r > 0.999 0$ ), whose average recoveries were 94.73% - 104.45% with RSDs of 0.68% - 3.89%. The method is simple, fast, accurate, and could be used for the quality control of compound liquorice tablets.

**Key words:** compound liquorice tablets; fingerprint; content determination; quality control

复方甘草片是 20 世纪 50 年代我国医药工作者

在国外经典天然药物处方的基础上, 自主开发的镇咳祛痰药<sup>[1]</sup>。其原方出自约翰·布朗医师 (1735 ~ 1788) 的布朗合剂。1963 年青海制药厂删除原方中酒石酸锑钾并改剂型为片剂, 首家注册复方甘草片。此后复方甘草片的组方工艺几经变更<sup>[2]</sup>。目前处

收稿日期: 2019-11-22 接受日期: 2020-05-15  
基金项目: 2018 年研发经费投入补助 (昆药集团股份有限公司) (2018YB258)

\* 通信作者 Tel: 86-871-68319868-2045; E-mail: mailtolining@gmail.com, junfeng.liu@holley.cn

方每片含甘草浸膏粉 112.5 mg、阿片粉或罂粟果提取物粉 4 mg、樟脑 2 mg、八角茴香油 2 mg、苯甲酸钠 2 mg<sup>[2,3]</sup>。复方甘草片治疗感染后咳嗽安全、可靠,总有效率为 77.7%~85.4%,有效性及安全性与中华医学会呼吸病学分会《咳嗽的诊断与治疗指南(2015)》<sup>[4]</sup>推荐的右美沙芬相当<sup>[1]</sup>,且较右美沙芬更为经济<sup>[5]</sup>。目前,中国有复方甘草片生产厂家 33 家,涉及 36 个批准文号,年产复方甘草片约 200 亿片,市场价值约 20 亿人民币<sup>[2]</sup>。

质量是药品疗效的根本保证。为提高仿制药质量,国务院办公厅 2016 年 3 月 5 日发布了《国务院办公厅关于开展仿制药质量和疗效一致性评价的意见》(国办发[2016]8 号),要求开展仿制药质量和疗效的一致性评价。食品药品监管总局 2016 年 5 月 25 日发布了《2018 年底前须完成仿制药一致性评价品种目录》,复方甘草片明确列入该目录中。2018 年 1 月 30 日,仿制药质量与疗效一致性评价办公室将复方甘草片列入《289 基药目录中国内特有品种名单》,鼓励并要求企业提出科学合理的评价方案。

为解决行业共性问题,进一步完善复方甘草片的质量研究,本研究收集 10 个厂家共 18 批次复方甘草片样品进行了摸底性调查研究,建立了 HPLC 指纹图谱分析方法,对其中 14 个共有峰进行了鉴定,并同时对其中的啡、磷酸可待因、芹糖甘草苷、甘草苷、苯甲酸钠、异甘草苷、甘草酸 7 个主要成分的含量进行测定,为寻求符合复方甘草片特点的一致性评价路径提供新的技术手段和基础性研究资料。

## 1 材料、仪器与试剂

### 1.1 仪器

Agilent1200 高效液相色谱仪(包括 DAD 检测器、柱温箱、自动进样器、在线脱气机、四元梯度泵)(美国 Agilent 公司);XP205、XPE26 分析电子天平(Mettler 公司);5510E-DTH 超声提取仪(美国 Branson 公司);Milli-Q 超纯水机(美国 Millipore 公司)。

### 1.2 材料与试剂

18 批复方甘草片(编号见表 1)由昆药集团股份有限公司(以下简称昆药集团或昆药)提供,包括 9 批昆药集团样品和 9 批其他厂家(厂家 1~9)样品;啡、磷酸可待因、苯甲酸钠、甘草苷、甘草酸铵、反式茴香脑对照品购自中国食品药品检定研究院;刺甘草查尔酮、甘草查尔酮 A、甘草查尔酮 B、甘草素、异甘草素、光甘草定、异甘草苷对照品购自成都

曼思特生物科技有限公司;芹糖甘草苷对照品购自四川省维克奇生物科技有限公司;乙腈为色谱纯(MERCK 公司),甲醇为分析纯(天津市风船化学试剂科技有限公司),水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法

### 2.1 供试品溶液的制备

取本品 20 片,精密称取,研细,精密称取 1 片量,置 50 mL 量瓶中,加 50% 甲醇适量,超声提取 30 min,用 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过(0.45 μm 滤膜),取续滤液,即得。

### 2.2 对照品溶液的制备

精密称取各对照品适量,加少量甲醇溶解后,用 50% 甲醇水溶液稀释定容,即得各对照品储备液。根据实验需要,分别精密吸取各储备液适量,用 50% 甲醇水溶液稀释定容配成混合对照品溶液。其中含量测定用啡、磷酸可待因、芹糖甘草苷、甘草苷、苯甲酸钠、异甘草苷、甘草酸铵混合对照品溶液,每 1 mL 分别约含啡 0.008 mg、磷酸可待因 0.004 mg、芹糖甘草苷 0.036 mg、甘草苷 0.016 mg、苯甲酸钠 0.040 mg、异甘草苷 0.016 mg、甘草酸铵 0.180 mg。

### 2.3 色谱条件

Welch Ultimate AQ-C<sub>18</sub> 色谱柱(5 μm, 4.6 mm × 250 mm);以乙腈为流动相 A,以 0.02 mol/L 磷酸盐缓冲液(取磷酸二氢钾 2.72 g,加水至 1 000 mL,磷酸调 pH 至 4.0)为流动相 B,进行梯度洗脱(0~10 min, 2%→10% A; 10~25 min, 10%→38% A; 25~35 min, 38%→55% A; 35~40 min, 55%→60% A; 40~50 min, 65% A; 50~55 min, 65%→2% A; 55~65 min, 2% A);流速 1.0 mL/min;检测波长为 220 和 254 nm;柱温 30 °C;进样量 10 μL。

## 3 结果

### 3.1 指纹图谱的方法学考察

#### 3.1.1 精密度试验

取同一批号昆药集团样品,按“2.1”项下方法制备供试品溶液,按“2.3”项下的规定连续进样 6 次,测得各色谱图的相似度均大于 0.99, RSD 小于 0.5%。以甘草酸色谱峰为参照,主要共有峰相对保留时间 RSD 小于 1%,相对峰面积 RSD 小于 3%。结果表明仪器精密度良好。

#### 3.1.2 重复性试验

取同一批号昆药集团样品,按“2.1”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按“2.3”项下的规定进样分析,测得各色谱图的相似度均大于 0.99, RSD

小于0.5%。以甘草酸色谱峰为参照,主要共有峰相对保留时间RSD小于1%,相对峰面积RSD小于3%。结果表明本方法重复性良好。

### 3.1.3 稳定性试验

取同一批号昆药集团样品,按“2.1”项下方法制备供试品溶液,分别于制备后的0、2、4、8、12、18、24、48、72、96 h进样,按“2.3”项下的规定进样分析,测得各色谱图的相似度均大于0.99,RSD小于0.5%。以甘草酸色谱峰为参照,主要共有峰相对保留时间RSD小于1%,相对峰面积RSD小于3%。结果表明样品于96 h内稳定。

## 3.2 指纹图谱的建立、相似度分析及共有峰指认

取不同批号复方甘草片共18批,分别按“2.1”

项下方法制备供试品溶液,按“2.3”项下的规定进样分析,将220 nm波长的色谱图输入相似度评价软件进行相似度比较,剪切10 min之前和50 min之后的色谱峰,采用中位数法生成参照指纹图谱。各批次药品指纹图谱的叠加图及共有模式指纹图谱分别见图1和图2。以共有模式为参照,各批次样品的相似度计算结果见表1,所有批次样品的相似度均在0.95以上。指纹图谱中可见27个主要共有峰(图2),占总峰面积80%以上。与对照品色谱图对照保留时间,共有峰1、3、8、9、10、14、16、17、19、20、22、24、25、26分别指认鉴定为吗啡、磷酸可待因、芹糖甘草苷、甘草苷、苯甲酸钠、异甘草苷、甘草查尔酮B、甘草素、甘草酸、刺甘草查尔酮、异甘草素、甘草

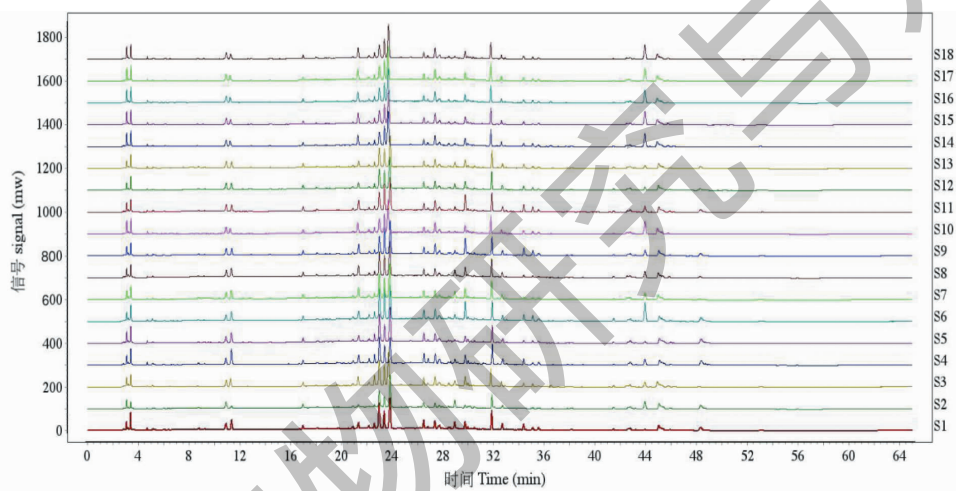


图1 18批样品指纹图谱

Fig. 1 Fingerprints of 18 batches of samples

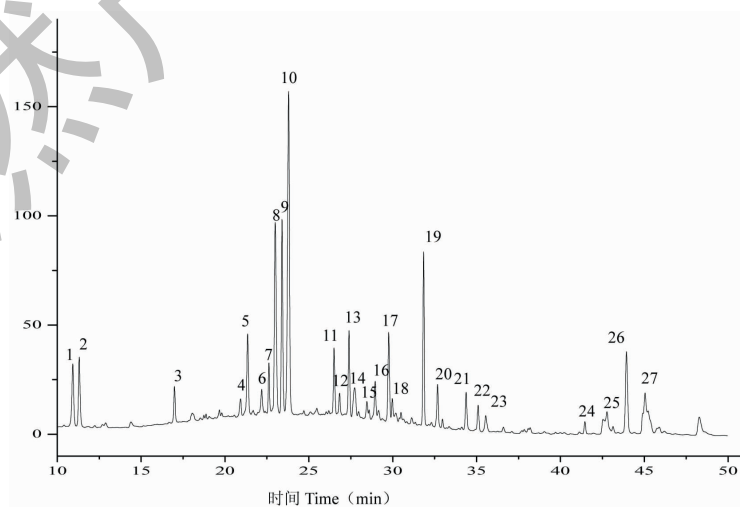


图2 18批样品指纹图谱共有模式

Fig. 2 Fingerprint common patterns of 18 batches of samples



续表 2 (Continued Tab. 2)

峰号 No.	相对保留时间 RRT	相对峰面积 Relative peak area																		RSD (%)
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	
20	1.026	0.417	0.288	0.331	0.393	0.314	0.323	0.289	0.294	0.331	0.276	0.334	0.291	0.289	0.279	0.268	0.277	0.276	0.273	13.51
21	1.080	0.411	0.068	0.270	0.358	0.167	0.401	0.163	0.164	0.497	0.272	0.475	0.278	0.280	0.276	0.265	0.274	0.273	0.272	38.49
22	1.102	0.189	0.093	0.200	0.143	0.169	0.329	0.106	0.112	0.349	0.192	0.313	0.175	0.168	0.216	0.084	0.208	0.177	0.160	40.66
23	1.116	0.206	0.081	0.124	0.190	0.158	0.188	0.128	0.130	0.205	0.156	0.193	0.143	0.140	0.160	0.151	0.160	0.158	0.155	20.11
24	1.302	0.108	0.139	0.104	0.043	0.096	0.175	0.085	0.094	0.102	0.055	0.095	0.120	0.112	0.059	0.024	0.056	0.049	0.046	44.28
25	1.343	0.307	0.391	0.260	0.426	0.346	0.316	0.250	0.254	0.270	0.276	0.300	0.263	0.268	0.271	0.261	0.274	0.276	0.256	16.83
26	1.380	0.100	0.917	0.427	0.508	0.170	1.687	0.646	0.647	0.579	1.280	0.524	0.310	0.307	1.350	1.414	1.336	1.302	1.505	61.66
27	1.415	0.479	0.725	0.211	0.421	0.521	0.463	0.467	0.463	0.493	0.237	0.483	0.489	0.511	0.225	0.241	0.219	0.237	0.238	37.73

### 3.4 含量测定的方法学考察

本研究建立的指纹图谱分析方法可同时对复方甘草片中吗啡、磷酸可待因、芹糖甘草苷、甘草苷、苯甲酸钠、异甘草苷、甘草酸面积 7 个主要成分进行含量测定。

#### 3.4.1 专属性试验

取昆药集团样品及空白辅料,按“2.1”项下方法制备供试品溶液和空白辅料溶液,取对照品,按“2.2”项下方法制备对照品溶液,分别按“2.3”项下的规定进样分析。如图 4 中可见,空白辅料溶液色谱图中无干扰峰影响定量,对照品溶液与供试品溶液色谱图中吗啡、磷酸可待因、芹糖甘草苷、甘草苷、苯甲酸钠、异甘草苷、甘草酸与相邻峰分离良好(分离度大于 1.5)。结果表明本方法专属性良好。

#### 3.4.2 精密度试验

取同一批号昆药集团样品,按“2.1”项下方法制备供试品溶液,按“2.3”项下的规定连续进样 6 次,测得吗啡、磷酸可待因、芹糖甘草苷、甘草苷、苯甲酸钠、异甘草苷、甘草酸峰面积 RSD 为 0.68% ~ 1.29%。结果表明仪器精密度良好。

#### 3.4.3 重复性试验

取同一批号昆药集团样品,按“3.1”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按“2.3”项下的规定进样分析,测得吗啡、磷酸可待因、芹糖甘草苷、甘草苷、苯甲酸钠、异甘草苷、甘草酸峰面积 RSD 为 0.21% ~ 3.90%。结果表明本方法重复性良好。

#### 3.4.4 稳定性试验

取同一批号昆药集团样品,按“2.1”项下方法制备供试品溶液,分别于制备后的 0、2、4、8、12、18、24、48、72、96 h 进样,按“2.3”项下的规定进样分

析,测得吗啡、磷酸可待因、芹糖甘草苷、甘草苷、苯甲酸钠、异甘草苷、甘草酸的峰面积 RSD 为 0.98% ~ 4.53%。结果表明样品于 96 h 内稳定。

#### 3.4.5 线性关系试验

精密称取 7 个对照品,以 50% 甲醇水溶液溶解并逐级稀释成一系列不同浓度的工作液。按“2.3”项下的规定进样分析。于 220 nm 检测吗啡、磷酸可待因、芹糖甘草苷、甘草苷、苯甲酸钠和异甘草苷,254 nm 检测甘草酸。以浓度为横坐标 X,峰面积为纵坐标 Y 绘制工作曲线,计算回归方程。结果见表 3,吗啡、磷酸可待因、芹糖甘草苷、甘草苷、苯甲酸钠、异甘草苷、甘草酸在相应的质量浓度范围内线性关系良好。

#### 3.4.6 定量限

取各成分对照品溶液,逐级稀释测定,满足 S/N  $\geq 10$ ,即为定量限。结果表明吗啡、磷酸可待因、芹糖甘草苷、甘草苷、苯甲酸钠、异甘草苷、甘草酸的定量限为 2.3、4.5、7.3、3.8、9.5、4.0、4.8 ng。

#### 3.4.7 加样回收率试验

分别取已知含量的同一批号昆药集团样品 9 份,每份约 0.0685 g 置 50 mL 量瓶中,精密称取。分为 3 组,分别加入供试品中待测定成分量为 80%、100%、120% 的对照品。以上 9 份按“2.1”项下方法,自“加 50% 甲醇适量”开始制备加样回收供试品溶液,按“2.3”项下的规定进样分析,计算加样回收率。吗啡、磷酸可待因、芹糖甘草苷、甘草苷、苯甲酸钠、异甘草苷、甘草酸的平均加样回收率分别为 104.45%、103.47%、100.07%、100.60%、97.54%、94.73%、102.83%,RSD 值分别为 0.81%、3.89%、0.68%、0.89%、2.91%、1.52%、1.35%。结果表明

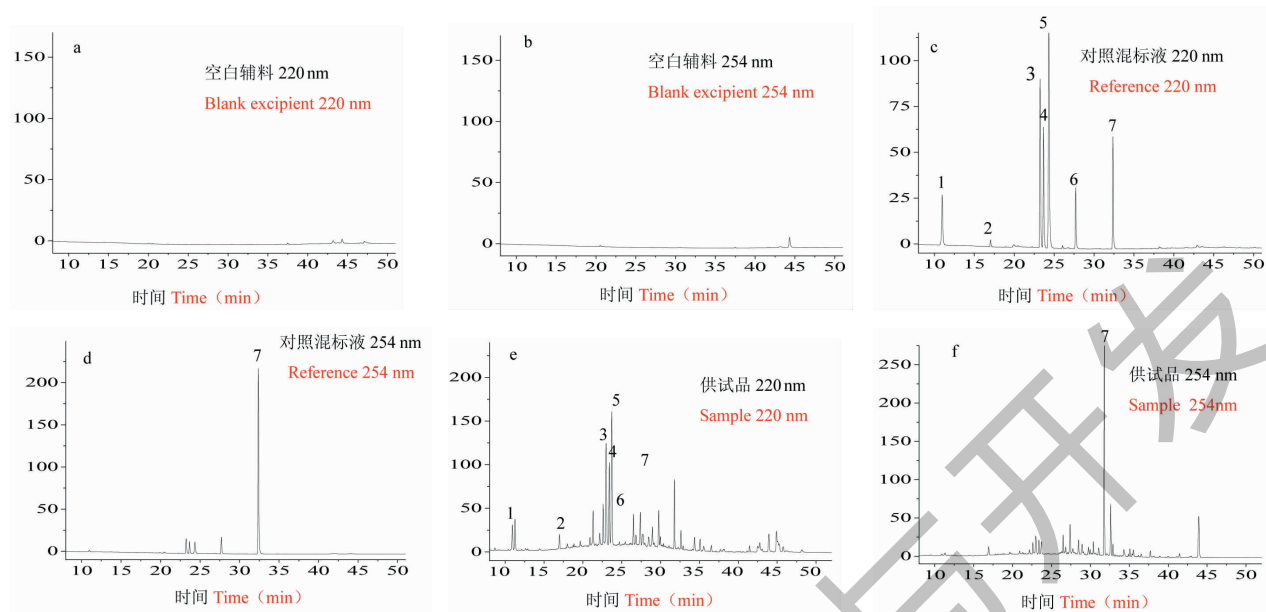


图 3 空白 (a 和 b)、对照品 (c 和 d) 和供试品 (e 和 f) 的色谱图

Fig. 3 Chromatograms of blank (a,b), reference (c,d) and sample (e,f)

注:1. 吗啡;2. 磷酸可待因;3. 芹糖甘草苷;4. 甘草苷;5. 苯甲酸钠;6. 异甘草苷;7. 甘草酸。Note:1. Morphine;2. Codeine phosphate;3. Liquiritinapioside;4. Liquiritin;5. Sodium benzoate;6. Isoliquiritin;7. glycyrrhizic acid.

表 3 7 种指标成分的线性关系

Table 3 Linear relationships of 7 constituents

化合物 Compound	回归方程 Linear equation	相关系数 Correlation coefficient (r)	线性范围 Linear range (μg/mL)
吗啡 Morphine	$Y = 27.83X - 4.733$	0.999 9	0.225 2 ~ 67.56
磷酸可待因 Codeine phosphate	$Y = 22.10X - 1.894$	0.999 7	0.446 2 ~ 6.693
芹糖甘草苷 Liquiritinapioside	$Y = 22.61X - 10.39$	0.999 8	0.731 7 ~ 219.5
甘草苷 Liquiritin	$Y = 31.22X - 9.920$	0.999 8	0.374 9 ~ 112.5
苯甲酸钠 Sodium benzoate	$Y = 29.54X - 19.69$	0.999 8	0.952 3 ~ 285.7
异甘草苷 Isoliquiritin	$Y = 14.20X - 8.335$	0.999 3	0.402 4 ~ 120.7
甘草酸 Glycyrrhizic acid	$Y = 7.73X - 52.95$	0.999 9	4.765 ~ 1 429

本方法回收率良好。

### 3.5 样品含量测定

取 18 批样品,按“2.1”项下方法制备供试品溶液,取吗啡、磷酸可待因、芹糖甘草苷、甘草苷、苯甲酸钠、异甘草苷、甘草酸对照品,按“2.2”项下方法制备对照品溶液,分别按“2.3”项下的规定进样分析,根据标准曲线计算各批次样品中 7 个化合物的含量,结果见表 4。

## 4 讨论

复方甘草片作为复方天然药物,化学成分复杂,质量受药材来源及工艺参数等多种因素的影响,其

一致性评价方法与化学仿制药有显著的区别。中药、天然药物的一致性评价是复杂的系统科学,是行业普遍关注的热点问题,众多学者提出了多种研究模式与思路<sup>[2,6-8]</sup>。其中,指纹图谱和多成分含量测定是较为公认的技术手段与评价方法。建立指纹图谱分析方法,与多成分含量测定相结合,构建中药整体成分质量控制体系,已成为中药质量标准的发展方向<sup>[9]</sup>。

复方甘草片的指纹图谱及含量测定方法已有相关文献报道<sup>[10-15]</sup>。但不同研究者的角度、研究目的及实验条件不同,报道的分析方法各异,多数无法在

表4 18批样品7成分含量测定结果

Table 4 Results of content determination of 7 constituents

样品 Sample	每片含量 Content of every piece (mg)							总和 Total
	吗啡 Morphine	磷酸可待因 Codeine phosphate	芹糖甘草苷 Liquiritinapioside	甘草苷 Liquiritin	苯甲酸钠 Sodium benzoate	异甘草苷 Isoliquiritin	甘草酸 Glycyrrhizic acid	
厂家1	0.38	0.17	1.59	0.76	1.75	0.65	9.25	14.55
厂家2	0.36	0.16	1.21	0.57	1.78	0.44	7.46	11.98
厂家3	0.41	0.18	1.89	0.90	1.94	0.72	8.16	14.20
厂家4	0.39	0.18	1.62	0.76	1.44	0.78	9.47	14.64
厂家5	0.37	0.16	1.53	0.73	1.92	0.63	7.91	13.25
厂家6	0.42	0.20	2.53	1.28	1.90	0.77	9.27	16.37
厂家7	0.39	0.19	1.81	0.86	1.94	0.55	8.36	14.10
厂家8	0.40	0.19	2.19	1.09	1.86	0.76	8.54	15.03
厂家9	0.38	0.18	1.60	0.76	1.75	0.57	8.18	13.42
昆药1	0.40	0.18	1.71	0.81	1.94	0.77	8.12	13.93
昆药2	0.39	0.18	1.67	0.77	1.95	0.74	8.05	13.75
昆药3	0.38	0.17	1.68	0.78	1.97	0.76	7.94	13.68
昆药4	0.39	0.18	1.68	0.79	2.01	0.79	8.12	13.96
昆药5	0.37	0.16	1.69	0.80	1.92	0.73	8.01	13.68
昆药6	0.39	0.17	1.64	0.79	1.89	0.79	7.89	13.56
昆药7	0.38	0.17	1.68	0.80	1.92	0.79	7.77	13.51
昆药8	0.38	0.18	1.69	0.80	1.88	0.79	7.88	13.60
昆药9	0.37	0.17	1.64	0.79	1.93	0.78	7.79	13.47
RSD(%)	3.89	6.20	15.86	18.17	6.92	14.34	6.79	6.39

获得指纹图谱的同时进行多成分精确含量测定,且测定的指标性成分数量较少。本课题组前期采用UHPLC-LTQ-Orbitrap高分辨液质联用技术从复方甘草片中分析鉴定了55个成分<sup>[16]</sup>。该方法可用于进一步获取复方甘草片的化学轮廓及55个成分的定量与半定量。但方法测试成本较高且需要配备专门的仪器及分析人员。为解决行业共性问题,本研究基于HPLC及紫外检测器建立了更为通用的分析方法,更加适于工业界推广应用。

本研究的色谱条件参考文献<sup>[13]</sup>,并在此基础上进行了优化调整。首先,采用了耐水的反相色谱柱。为保证吗啡及相邻色谱峰的基线分离,本方法以98%水相做为起始流动相,耐水色谱填料的使用可避免高水相引起的色谱柱塌陷,延长色谱柱寿命。其次,选择220 nm为指纹图谱的检测波长。该波长下的色谱图色谱峰数量多,峰形及分离度良好,来源于甘草浸膏粉、阿片粉或罂粟果提取物、八角茴香油

的色谱峰及苯甲酸钠均有体现,且各色谱峰峰面积比例适中。虽然254 nm波长的化学信息也较丰富,但甘草酸色谱峰的峰面积占总峰面积的比例过大,对整体相似度贡献过大。第三,选择220 nm做为吗啡、磷酸可待因、芹糖甘草苷、甘草苷、苯甲酸钠、异甘草苷、甘草酸的定量波长。选择254 nm做为甘草酸的定量波长。对7个成分进行了完整的含量测定方法学考察。其中吗啡、磷酸可待因为阿片粉或罂粟果提取物的活性成分,芹糖甘草苷、甘草苷、异甘草苷和甘草酸为甘草浸膏粉的特征性成分,且兼顾了苯甲酸钠,多指标共同定量使分析结果更具代表性。

本研究首先通过指纹图谱相似度评价法,通过与对照指纹图谱计算相似度评价药品质量。18批样品的相似度均在0.95以上,总体来说,不同厂家、批次复方甘草片的指纹图谱具有相对较好的一致性。其次对主要共有峰的相对峰面积范围进行了比



较分析。相对峰面积反映了各色谱峰的比例关系,进而更加细致地反映制剂的内在质量。在本研究中,各批次药品共有峰的相对峰面积在较宽的范围内波动,客观反映了不同批次样品成分比例差异。本研究进而对 7 个指标性成分进行了含量测定,18 批制剂 7 成分含量总和的平均值超过处方总重量的 10%。18 批复方甘草片中,吗啡、可待因、苯甲酸钠、甘草酸的含量一致性较好,RSD 分别为 3.89%、6.20%、6.92% 和 6.79%。蔗糖甘草苷、甘草苷、异甘草苷的含量一致性较差,RSD 分别为 15.86%、18.17% 和 14.34%。本研究对 10 个厂家 18 批次市场流通样品进行了分析,对复方甘草片的质量进行了初步的摸底性调查研究。但复方甘草片生产企业多,产量大,批次多,未来的工作中,建议利用本研究建立的分析方法,进一步增大样本数量,对不同厂家、批次样品的质量情况进行更加深入的调查研究。

阿片粉或罂粟果提取物粉属于国家管控的麻醉药品,由指定的企业统一供应,各复方甘草片厂家所用的原料来源相对一致,成品中吗啡和可待因的含量也相对稳定。甘草浸膏是甘草经加工制成的浸膏<sup>[3]</sup>,生产厂家较多,来源多样。甘草为多基源药材,至少涉及甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、胀果甘草 *G. inflata* Bat.、光果甘草 *G. glabra* L. 三种药用植物<sup>[3]</sup>,物种本身的化学成分和活性存在差异<sup>[17]</sup>,野生及栽培药材的质量参差不齐<sup>[9]</sup>,不同品种、不同采收期栽培药材的有效成分含量亦有不同<sup>[18]</sup>。各厂家浸膏生产工艺的差异进一步造成了甘草浸膏粉的质量差异。复方甘草片现行国家标准<sup>[3]</sup>对甘草酸含量进行了规定,因此各厂家采取了技术手段以保障甘草酸含量的相对稳定。但是对于未订入质量标准的成分,如蔗糖甘草苷、甘草苷、异甘草苷等,批间含量波动较大,一致性较差。在未来的研究工作中,应加强对药材源头的研究和管控,系统研究各成分在药材、中间体、制剂间的转移传递规律,制订更为科学、合理的质量标准。本研究为进一步研究提供了分析方法和技术保障。

## 5 结论

本研究建立了复方甘草片的 HPLC 指纹图谱及吗啡、磷酸可待因、蔗糖甘草苷、甘草苷、苯甲酸钠、异甘草苷、甘草酸 7 成分测定方法。实验结果表明本方法简便、快速、准确、可靠,可用于复方甘草片的质量控制,为寻求符合复方甘草片特点的一致性评价路径提供了新的技术手段和基础性研究资料。

## 参考文献

- 1 Wang JP, Li XL, Wang L, et al. Meta-analysis on treatment of post-infectious cough by compound licorice tablets[J]. Clin Med J(临床药物治疗杂志), 2018, 16(5): 37-46.
- 2 Yan H, Sun WY, Sun GX, et al. Progress in the preparation process and analytical methods and the consistency evaluation of compound licorice tablets[J]. Central South Pharm(中南药学), 2018, 16(1): 14-23.
- 3 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol I(中华人民共和国药典:第一部)[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015.
- 4 The Respiratory Branch Asthma Group of Chinese Medical Association. Guidelines for the diagnosis and treatment of cough(2015)[J]. Chin J Tuberc Resp Dis(中华结核和呼吸杂志), 2016, 39: 323-354.
- 5 Wang JP, Zhang XY, Tang KZ, et al. The pharmacoeconomic evaluation of compound licorice tablets in the treatment of postinfectious cough[J]. Chin J Pharm Econ(中国药物经济学), 2019, 14(3): 10-14.
- 6 Zhang HZ, Xiao XH, Wang JB, et al. Consistency of efficacy-equivalent: key essential point of quality control for Chinese materia medica[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2015, 46: 1571-1575.
- 7 Tao XB, Huang YQ, Hong B, et al. Study on quality consistency of traditional Chinese medicine[J]. World Sci Technol/Modern Tradit Chin Med Mater Med(世界科学技术—中医药现代化), 2017, 19: 1781-1786.
- 8 Hou XM, Yue HS, Zhang N, et al. Study on quality consistency of Chinese materia medica[J]. Drug Eval Res(药物评价研究), 2016, 39(1): 38-45.
- 9 Tu PF, Huang LQ, Cheng WS, et al. Working ideas on amendment of quality standards of Chinese crude drugs and decoction pieces in Chinese Pharmacopoeia(2020 Editoin)[J]. Mod Chin Med(中国现代中药), 2018, 20: 1459-1464.
- 10 Zhang YJ, Yang FL, Zhang J, et al. Quantitative fingerprint and quality control analysis of compound licorice tablet combined with antioxidant activities and chemometrics methods[J]. Phytomedicine, 2019, 59: 152790.
- 11 Sun GX, Zhi XZ, Bi KS. Overall qualitative and overall quantitative assessment of compound licorice tablets using HPLC fingerprints[J]. Anal Sci, 2009, 25: 529-534.
- 12 Huang ZH, Cui HF, Cai DD, et al. Quantitative determination of 4 alkaloids in compound licorice tablets by UPLC-MS/MS[J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2015, 35: 1083-1086.