

市售复方甘草片的质量评价

赵海鹏^{1,2}, 齐衍超¹, 祁立新¹, 杨丽蓉¹, 陈燕¹, 徐玉文^{2,3,4*} (1.潍坊市检验检测中心, 山东 潍坊 261200; 2.国家药品监督管理局仿制药研究与评价重点实验室, 济南 250101; 3.山东省食品药品检验研究院, 济南 250101; 4.山东省仿制药一致性评价工程技术研究中心, 济南 250101)

摘要: 目的 对市售复方甘草片的质量进行分析评价。方法 依据现行法定标准对 17 个生产企业的 60 批复方甘草片进行检验, 并针对性地建立气相色谱法对样品中樟脑、反式茴香脑进行检测(标准中缺少针对挥发性组分的质量控制指标)。结果 按照法定标准检验 60 批复方甘草片, 合格率为 100%; 60 批样品每片含樟脑含量为 0.073~1.393 mg, 均未达到理论限度值(每片 1.54~2.30 mg); 每片含反式茴香脑含量为 0.000~1.569 mg, 26 批达到理论限度值(每片 1.28~1.92 mg)。结论 60 批复方甘草片均符合法定标准, 总体质量良好; 但各厂家的复方甘草片中樟脑、反式茴香脑含量存在较大差异, 现行标准无法较好地反映出该品种的实际质量优劣, 建议相关部门加强监管并修订完善质量标准。

关键词: 复方甘草片; 樟脑; 反式茴香脑; 气相色谱法; 聚类分析; 质量评价

中图分类号: R284.1 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2022)13-1737-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.13.012

引用本文: 赵海鹏, 齐衍超, 祁立新, 等. 市售复方甘草片的质量评价[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(13): 1737-1743.

Quality Evaluation of Compound Liquorice Tablets in Market

ZHAO Haipeng^{1,2}, QI Yanchao¹, QI Lixin¹, YANG Lirong¹, CHEN Yan¹, XU Yuwen^{2,3,4*} (1. Weifang Inspection and Testing Center, Weifang 261200, China; 2. NMPA Key Laboratory for Research and Evaluation of Generic Drugs, Jinan 250101, China; 3. Shandong Institute for Food and Drug Control, Jinan 250101, China; 4. Shandong Research Center of Engineering and Technology for Consistency Evaluation of Generic Drugs, Jinan 250101, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To evaluate the quality of Compound Liquorice Tablets in market. **METHODS** According to the mandatory standard, 60 batches of Compound Liquorice Tablets from 17 production enterprises were tested, and GC was established to detect camphor and trans-anethole in samples (there was no quality control index for volatile components in the standard). **RESULTS** According to the mandatory standard, 60 batches of Compound Liquorice Tablets were tested, and the qualified rate was 100%. The content of camphor in each tablet of 60 batches of products was 0.073–1.393 mg, which did not reach the theoretical limit value (1.54–2.30 mg per tablet). The content of trans-anethole in each tablet was 0.000–1.569 mg, and 26 batches reached the theoretical limit value (1.28–1.92 mg per tablet). **CONCLUSION** The 60 batches of Compound Liquorice Tablets meet the mandatory standards with good overall quality. However, the contents of camphor and trans-anethole in Compound Liquorice Tablets from different production enterprises are quite different, and the current standards cannot well reflect the actual quality of the variety. It is advised relevant department should enhance the supervision and management, meanwhile to revise and improve the quality standard.

KEYWORDS: Compound Liquorice Tablets; camphor; trans-anethole; GC; cluster analysis; quality evaluation

复方甘草片是 20 世纪 50 年代中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^[1]。目前收载于中国药典 2020 年版二部, 处方为每片含甘草浸膏粉 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^[2]。检验项目包括①性状; ②鉴别: 薄层色谱法、液相色谱法; ③检查; ④含量测定。

本品作为现行药典品种, 其质量标准中仅对甘草浸膏提取物和阿片粉进行了薄层色谱法以及

HPLC 的控制检测, 相关文献报道也缺少对方剂中的樟脑和八角茴香油(主要成分是反式茴香脑)进行质量监控^[3-4]。以上 2 个组分在药理上能刺激支气管黏膜, 反射性地增加腺体分泌, 稀释痰液, 使痰易于咳出, 故有必要对 2 种成分进行质量控制。原国家食品药品监督管理总局于 2016 年 5 月 25 日发布了《2018 年底以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其列入《289 基药目录中国内特有品种名

作者简介: 赵海鹏, 男, 硕士, 工程师
E-mail: zhp640@163.com

E-mail: zhp640@163.com

*通信作者: 徐玉文, 男, 博士, 主任药师

E-mail: 13553158409@163.com

单》，研发难度较大。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 17 个厂家共 60 批次样品，结合法定标准检验结果，重点采用 GC 对样品中上述 2 类挥发性组分的指标成分进行测定，以期对当前市售复方甘草片的质量进行更加准确的评价；并结合企业调研及文献研究^[5]，针对制剂工艺问题展开进一步分析与讨论，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 仪器与试剂

GC 2010 plus 气相色谱仪、AOC-20i 自动进样器均购自日本岛津公司；XSE205DU 电子分析天平 (Mettler Toledo 公司)。

(左旋)樟脑对照品(批号:111749-201702;含量:99.9%)、反式茴香脑对照品(批号:111835-201804;含量:99.6%)均购自中国食品药品检定研究院;萘、乙醇均为色谱纯。

复方甘草片样品基本信息见表 1,共涉及全国 17 个生产单位,共计 60 批。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Agilent DB-WAX 毛细管柱(30 m×0.32 mm, 0.25 μm)。程序升温:初始温度 100 °C,保持 5.5 min,以 20 °C·min⁻¹的速率升温至 140 °C,保持 4 min,再以 50 °C·min⁻¹的速率升温至 200 °C,保持 6 min。进样口温度 220 °C,氮气流速:3.0 mL·min⁻¹;分流比:1:20;FID 检测器,检测器温度:230 °C;氢气流速:40.0 mL·min⁻¹;空气流速:400.0 mL·min⁻¹;进样量:1 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 内标溶液的制备 取萘 152.7 mg,置 500 mL 量瓶中,加乙醇溶解并定容至刻度,摇匀,制成约 0.3 mg·mL⁻¹的内标溶液。

2.2.2 对照品溶液的制备 称取樟脑、反式茴香脑各约 25 mg,精密称定,置 25 mL 量瓶中,加内标溶液溶解并定容至刻度,摇匀;各精密量取适量,加内标溶液稀释制成分别约为 0.3 mg·mL⁻¹的混合对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品 10 片,研细,精密称取适量(约相当于樟脑 3 mg),置 10 mL 量瓶中,加内标溶液适量,超声处理 10 min,放冷,加内标溶液定容至刻度,摇匀,滤过,即得。

表 1 复方甘草片样品基本信息

Tab. 1 Basic information of Compound Liquorice Tablets samples

| 编号 | 生产企业 | 批号 | 编号 | 生产企业 | 批号 |
|-----|------|----------|-----|------|----------|
| Y1 | A1 | 20190601 | Y31 | S1 | 1803014 |
| Y2 | L1 | 2190307 | Y32 | S1 | 1811029 |
| Y3 | F1 | 1807140 | Y33 | S1 | 1903019 |
| Y4 | F1 | 1809220 | Y34 | S1 | 1810017 |
| Y5 | G1 | 180905 | Y35 | S1 | 1811029 |
| Y6 | G1 | 180406 | Y36 | S1 | 1903024 |
| Y7 | GX1 | CG180812 | Y37 | S1 | 1903001 |
| Y8 | GX1 | CG180812 | Y38 | S1 | 1805014 |
| Y9 | B1 | 20190104 | Y39 | S1 | 1809007 |
| Y10 | B1 | 20180517 | Y40 | S1 | 1812023 |
| Y11 | HL1 | 20190304 | Y41 | S1 | 1903024 |
| Y12 | HN1 | 3180809 | Y42 | S1 | 1810007 |
| Y13 | H1 | 19040203 | Y43 | S1 | 1712026 |
| Y14 | H1 | 17020210 | Y44 | S1 | 1812026 |
| Y15 | J1 | 180509 | Y45 | S1 | 1903001 |
| Y16 | J1 | 181209 | Y46 | S1 | 1903029 |
| Y17 | J1 | 180316 | Y47 | S1 | 1812008 |
| Y18 | J1 | 190207 | Y48 | S1 | 1810006 |
| Y19 | N1 | 219016 | Y49 | S1 | 1811176 |
| Y20 | Z1 | 171134 | Y50 | S1 | 1810008 |
| Y21 | Z1 | 190231 | Y51 | S1 | 1812019 |
| Y22 | Z1 | 190202 | Y52 | S1 | 1811177 |
| Y23 | Z1 | 190202 | Y53 | S1 | 1811025 |
| Y24 | Z1 | 190103 | Y54 | S1 | 1904016 |
| Y25 | Q1 | 20180414 | Y55 | S1 | 1712021 |
| Y26 | S1 | 1811175 | Y56 | HE1 | 18120101 |
| Y27 | S1 | 1903004 | Y57 | HE1 | 18122101 |
| Y28 | S1 | 1711028 | Y58 | T1 | 1902007 |
| Y29 | S1 | 1802001 | Y59 | T1 | 1805066 |
| Y30 | S1 | 1903015 | Y60 | HB1 | 18060101 |

2.3 系统适用性试验

分别精密吸取上述溶液,分别按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图见图 1。结果显示,在该色谱条件下,各成分均可达到基线分离,分离度均>1.5。

2.4 线性关系、定量限及检测限考察

称取樟脑、反式茴香脑各约 75 mg,精密称定,置 25 mL 量瓶中,加内标溶液稀释定容至刻度,作为混合对照储备液;精密量取混合对照储备溶液 0.2, 0.5, 1, 2, 6 mL 分别置于 10 mL 量瓶中,用内标溶液稀释定容至刻度,摇匀。分别精密吸取 1 μL 注入气相色谱仪,分别以对照品浓度与内标浓度之比为横坐标,对照品峰面积与内标峰面

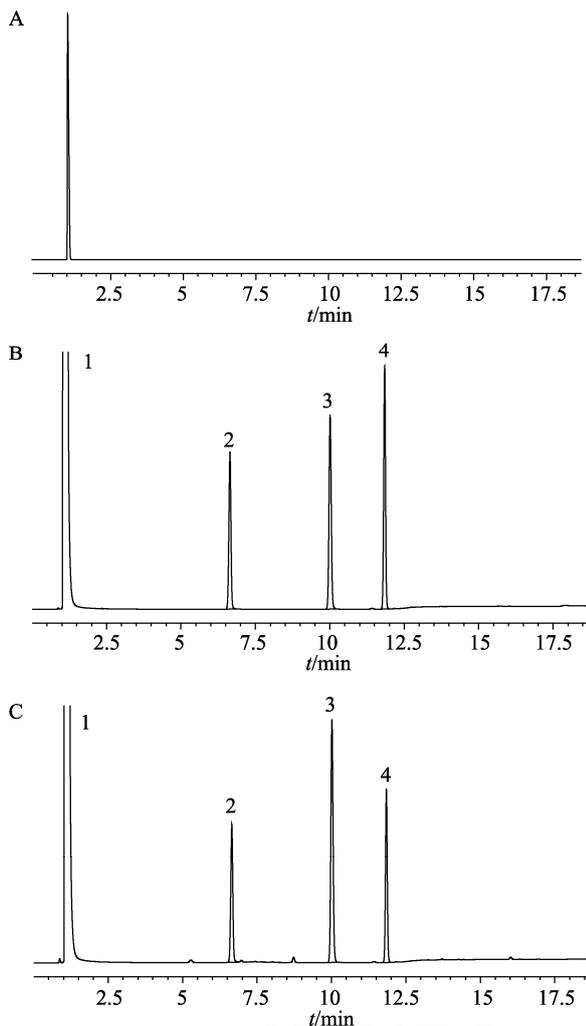


图1 气相色谱图

A-空白溶液; B-对照品溶液; C-样品溶液; 1-乙醇; 2-樟脑; 3-萘; 4-反式茴香脑。

Fig. 1 GC chromatograms

A-blank solution; B-reference solution; C-sample solution; 1-ethanol; 2-camphor; 3-naphthalene; 4-trans-anethole.

积之比为纵坐标建立回归方程: 樟脑($Y=0.8513X-0.0511$, $R^2=0.9997$); 反式茴香脑($Y=0.8218X-0.0735$, $R^2=0.9993$)。结果表明樟脑 $0.061\sim 1.840\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内与峰面积/内标峰面积呈良好的

表2 樟脑和反式茴香脑回收率结果($n=6$)

Tab. 2 Recovery results of camphor and trans-anethole ($n=6$)

| 样品中樟脑量/mg | 样品中反式茴香脑量/mg | 加入樟脑量/mg | 加入反式茴香脑量/mg | 测得樟脑量/mg | 测得反式茴香脑量/mg | 樟脑回收率/% | 反式茴香脑回收率/% |
|-----------|--------------|----------|-------------|----------|-------------|---------|------------|
| 1.925 | 2.183 | 1.533 | 1.543 | 3.465 | 3.751 | 100.46 | 101.62 |
| 1.913 | 2.163 | 1.533 | 1.543 | 3.422 | 3.708 | 98.43 | 100.13 |
| 1.910 | 2.182 | 1.533 | 1.543 | 3.436 | 3.743 | 99.54 | 101.17 |
| 1.918 | 2.187 | 1.533 | 1.543 | 3.422 | 3.756 | 98.11 | 101.69 |
| 1.908 | 2.175 | 1.533 | 1.543 | 3.433 | 3.758 | 99.48 | 102.59 |
| 1.920 | 2.194 | 1.533 | 1.543 | 3.428 | 3.759 | 98.37 | 101.43 |
| 平均回收率/% | | | | | | 99.07 | 101.44 |
| RSD/% | | | | | | 0.84 | 0.72 |

线性关系, 反式茴香脑在 $0.061\sim 1.842\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内与峰面积/内标峰面积呈良好的线性关系。按照信噪比为 10 : 1 计算, 结果樟脑和反式茴香脑的定量限分别为 $2.00\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $1.75\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$; 按照信噪比 3 : 1 计算, 结果樟脑和反式茴香脑的检测限分别为 $0.75\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $0.50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.5 仪器精密度试验

用同一瓶对照品溶液, 连续进样 6 次, 分别计算樟脑峰面积、反式茴香脑峰面积与内标峰面积之比, 结果 RSD 分别为 0.56% 和 0.63%, 表明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验

精密称取同一批样品(编号: Y55), 平行取样 6 份, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 分别按“2.1”项下色谱条件进样测定, 计算供试品中樟脑和反式茴香脑的含量分别为每片 1.259, 1.272, 1.251, 1.275, 1.275, 1.279 mg 和每片 1.425, 1.435, 1.485, 1.442, 1.458, 1.450 mg, RSD 分别为 1.29% 和 1.46%, 结果表明方法重复性良好。

2.7 溶液稳定性考察

用同一复方甘草片(编号: Y55)供试品溶液, 分别于 0, 4, 8, 20 h 进样, 计算樟脑、反式茴香脑的含量, 在 20 h 内樟脑平均含量为每片 1.28 mg (RSD=0.27%), 反式茴香脑平均含量为每片 1.45 mg (RSD=0.49%), 表明溶液在 20 h 内稳定性良好。

2.8 加样回收率试验

采用加样回收法, 取已知含量的 S1 公司复方甘草片, 批号为 1810008, 精密称取 6 份细粉(各约 1.5 片量), 于 25 mL 量瓶中, 分别精密加入樟脑浓度 $0.1533\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、反式茴香脑浓度 $0.1543\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液 10 mL, 内标溶液稀释制备供试品溶液, 按“2.1”项下色谱条件测定, 计算回收率, 结果见表 2。

2.9 样品测定结果

取 60 批复方甘草片样品, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 同法测定, 结果见表 3~4。

表 3 S1 企业 30 批样品挥发性组分结果比较

Tab. 3 Comparison of volatile components in 30 batches of samples from S1 manufacturer

| 批号 | 樟脑含量/mg | 反式茴香脑含量/mg |
|---------|---------|------------|
| 1711028 | 0.130 | 0.034 |
| 1712021 | 1.307 | 1.437 |
| 1712026 | 1.291 | 1.385 |
| 1802001 | 1.057 | 1.234 |
| 1803014 | 0.920 | 1.168 |
| 1805014 | 1.266 | 1.481 |
| 1809007 | 1.233 | 1.496 |
| 1810006 | 1.226 | 1.473 |
| 1810007 | 1.235 | 1.518 |
| 1810008 | 1.282 | 1.454 |
| 1810017 | 0.545 | 0.726 |
| 1811025 | 1.155 | 1.333 |
| 1811029 | 0.993 | 1.277 |
| 1811029 | 0.917 | 1.186 |
| 1811175 | 1.179 | 1.336 |
| 1811176 | 1.160 | 1.353 |
| 1811177 | 1.166 | 1.349 |
| 1812008 | 1.316 | 1.424 |
| 1812019 | 1.160 | 1.297 |
| 1812023 | 1.316 | 1.486 |
| 1812026 | 1.224 | 1.425 |
| 1903001 | 1.393 | 1.569 |
| 1903001 | 1.331 | 1.486 |
| 1903004 | 1.161 | 1.376 |
| 1903015 | 1.015 | 0.188 |
| 1903019 | 1.303 | 1.473 |
| 1903024 | 1.357 | 1.506 |
| 1903024 | 1.307 | 1.443 |
| 1903029 | 1.142 | 1.306 |
| 1904016 | 1.308 | 1.498 |
| 均值/mg | 1.146 | 1.291 |
| RSD/% | 22.50 | 27.75 |

3 分析与讨论

3.1 按法定标准检验及探索性研究的结果与分析

按照中国药典 2020 年版二部项下规定, 对 60 批复方甘草片的性状、鉴别及吗啡和甘草酸含量等进行检验, 结果均符合药典规定, 说明被抽验复方甘草片总体质量良好, 结果见表 5。检验中发现, 复方甘草片现行标准主要以吗啡和甘草酸的鉴别和含量测定为主, 缺少对其他成分定量及限度的要求。

表 4 不同企业样品挥发性组分结果比较

Tab. 4 Comparison of volatile components in samples from different manufacturers

| 生产企业 | 批号数 | 樟脑含量/mg | 反式茴香脑含量/mg |
|------|-----|-----------|------------|
| A1 | 1 | 0.41 | 0.14 |
| L1 | 1 | 0.40 | 0.13 |
| HL1 | 1 | 1.22 | 0.48 |
| HN1 | 1 | 0.73 | 0.85 |
| N1 | 1 | 0.47 | 0.33 |
| Q1 | 1 | 0.73 | 0.22 |
| HB1 | 1 | 0.30 | 0.31 |
| F1 | 2 | 0.52±0.08 | 0.12±0.04 |
| G1 | 2 | 0.95±0.12 | 0.33±0.13 |
| GX1 | 2 | 0.14±0.10 | 0.10±0.01 |
| B1 | 2 | 0.61±0.10 | 0.21±0.12 |
| H1 | 2 | 0.51±0.21 | 0.71±0.06 |
| HE1 | 2 | 0.39±0.05 | 0.15±0.04 |
| T1 | 2 | 0.23±0.22 | 0.09±0.09 |
| J1 | 4 | 1.10±0.09 | 0.63±0.49 |
| Z1 | 5 | 0.43±0.47 | 0.35±0.60 |
| S1 | 30 | 1.15±0.26 | 1.29±0.36 |

为进一步保证制剂质量, 本课题探索性研究主要从处方中缺少质量监控的挥发性成分——樟脑和八角茴香油(主要成分是反式茴香脑)进行深入研究与分析。探索性研究检验结果显示, 复方甘草片中挥发性成分中, 60 批樟脑含量均未达到理论限度值, 34 批反式茴香脑含量未达到理论限度值, 不同企业之间差异显著。

3.2 复方甘草片中樟脑的检验结果分析

中国药典 2020 年版二部未对复方甘草片中樟脑的指标成分进行控制, 按照药典处方, 樟脑的理论值为每片 2 mg。根据中国药典 2020 年版一部樟脑限度规定(含樟脑成分的量应 \geq 96.0%), 按处方标示量的 80.0%~120.0%为限度, 规定复方甘草片中樟脑成分的含量限度为每片 1.54~2.30 mg。测定结果显示 60 批样品中, 樟脑含量均未达到限度值, 结果见图 2。其频数分布表显示樟脑含量在每片 0.9~1.50 mg 占较大比例, 达 58.3%。但占比 41.7% 的含量在每片 $<$ 0.90 mg, 含量远低于理论含量, 结果见图 3。结合企业调研分析发现, 由于樟脑本身的易挥发特性, 加之质量标准未控制樟脑的含量, 以致生产企业未重视产品中挥发性组分在生产过程中的损失, 导致樟脑含量偏低且差异显著。

3.3 复方甘草片中反式茴香脑的检验结果分析

中国药典 2020 年版二部未对复方甘草片中八角茴香油的指标成分进行控制, 按照药典处方,

表 5 60 批复方甘草片法定检验结果统计

Tab. 5 Statutory inspection results of 60 batches of Compound Liquorice Tablets

| 编号 | 性状 | 鉴别 | 平均片重/g | 吗啡含量/mg | 甘草酸含量/mg | 编号 | 性状 | 鉴别 | 平均片重/g | 吗啡含量/mg | 甘草酸含量/mg |
|-----|------|------|---------|---------|----------|-----|------|------|---------|---------|----------|
| Y1 | 棕色片 | 符合规定 | 0.131 4 | 0.37 | 8.0 | Y31 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.159 3 | 0.39 | 9.2 |
| Y2 | 棕色片 | 符合规定 | 0.157 8 | 0.39 | 8.1 | Y32 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.156 7 | 0.39 | 10.1 |
| Y3 | 棕色片 | 符合规定 | 0.141 5 | 0.36 | 8.2 | Y33 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.157 4 | 0.40 | 10.0 |
| Y4 | 棕色片 | 符合规定 | 0.138 9 | 0.38 | 8.7 | Y34 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.159 0 | 0.38 | 10.1 |
| Y5 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.145 7 | 0.40 | 8.3 | Y35 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.158 7 | 0.41 | 10.4 |
| Y6 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.144 4 | 0.38 | 8.4 | Y36 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.156 7 | 0.38 | 9.5 |
| Y7 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.212 6 | 0.41 | 8.0 | Y37 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.158 0 | 0.41 | 10.6 |
| Y8 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.211 8 | 0.39 | 7.9 | Y38 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.162 7 | 0.39 | 10.2 |
| Y9 | 棕色片 | 符合规定 | 0.132 4 | 0.42 | 8.1 | Y39 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.160 1 | 0.40 | 10.1 |
| Y10 | 棕色片 | 符合规定 | 0.138 6 | 0.40 | 8.0 | Y40 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.158 8 | 0.42 | 10.8 |
| Y11 | 棕色片 | 符合规定 | 0.136 8 | 0.41 | 8.2 | Y41 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.155 6 | 0.42 | 10.4 |
| Y12 | 棕色片 | 符合规定 | 0.191 1 | 0.39 | 8.7 | Y42 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.157 2 | 0.39 | 10.1 |
| Y13 | 灰棕色片 | 符合规定 | 0.163 0 | 0.40 | 9.7 | Y43 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.160 2 | 0.40 | 10.1 |
| Y14 | 灰棕色片 | 符合规定 | 0.163 6 | 0.39 | 9.2 | Y44 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.161 1 | 0.39 | 10.2 |
| Y15 | 棕色片 | 符合规定 | 0.182 0 | 0.37 | 8.8 | Y45 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.156 8 | 0.37 | 11.1 |
| Y16 | 灰棕色片 | 符合规定 | 0.182 4 | 0.41 | 9.2 | Y46 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.157 2 | 0.38 | 10.9 |
| Y17 | 灰棕色片 | 符合规定 | 0.175 4 | 0.40 | 9.4 | Y47 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.159 0 | 0.42 | 10.3 |
| Y18 | 棕色片 | 符合规定 | 0.181 4 | 0.40 | 9.4 | Y48 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.157 7 | 0.36 | 10.5 |
| Y19 | 棕色片 | 符合规定 | 0.132 8 | 0.42 | 8.6 | Y49 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.159 1 | 0.42 | 10.1 |
| Y20 | 灰棕色片 | 符合规定 | 0.172 0 | 0.39 | 9.5 | Y50 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.159 4 | 0.39 | 9.9 |
| Y21 | 棕色片 | 符合规定 | 0.174 8 | 0.39 | 9.0 | Y51 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.158 1 | 0.43 | 10.4 |
| Y22 | 棕色片 | 符合规定 | 0.176 4 | 0.39 | 9.3 | Y52 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.156 6 | 0.43 | 10.1 |
| Y23 | 棕色片 | 符合规定 | 0.175 0 | 0.40 | 9.4 | Y53 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.159 0 | 0.42 | 10.2 |
| Y24 | 棕色片 | 符合规定 | 0.176 7 | 0.37 | 9.0 | Y54 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.158 1 | 0.39 | 10.9 |
| Y25 | 棕色片 | 符合规定 | 0.131 7 | 0.38 | 7.6 | Y55 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.159 5 | 0.38 | 10.2 |
| Y26 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.157 0 | 0.42 | 10.2 | Y56 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.135 4 | 0.39 | 9.8 |
| Y27 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.156 4 | 0.40 | 10.1 | Y57 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.134 8 | 0.40 | 10.0 |
| Y28 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.160 4 | 0.38 | 10.1 | Y58 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.135 2 | 0.37 | 9.0 |
| Y29 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.160 5 | 0.38 | 9.7 | Y59 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.135 5 | 0.38 | 8.7 |
| Y30 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.156 0 | 0.38 | 9.6 | Y60 | 棕褐色片 | 符合规定 | 0.413 9 | 0.40 | 10.1 |

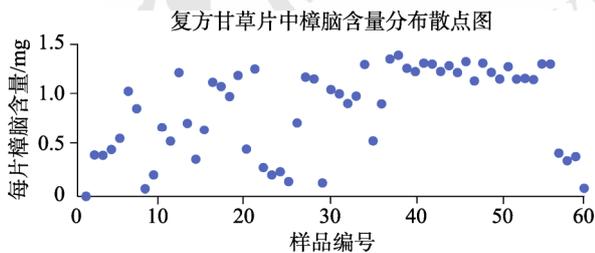


图 2 复方甘草片樟脑含量散点分布图
Fig. 2 Distribution map of camphor content in Compound Liquorice Tablets

八角茴香油的理论值为每片 2 mg。根据中国药典 2020 年版一部八角茴香油限度规定(含反式茴香脑成分的量应 $\geq 80.0\%$)，按处方标示量的 80.0%~120.0%为限度，规定复方甘草片中反式茴香脑成分的含量限度为每片 1.28~1.92 mg。测定结果显示 60 批样品中，反式茴香脑含量有 26 批达到规定限度值，占比 43.3%，结果见图 4。其频数分布显示，

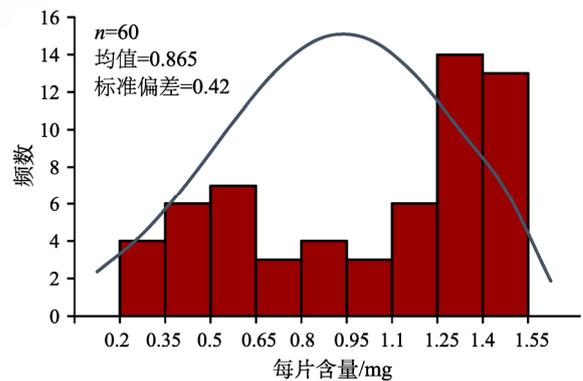


图 3 复方甘草片樟脑含量频数分布图
Fig. 3 Frequency distribution of camphor content in Compound Liquorice Tablets

反式茴香脑含量不同厂家差异明显，出现两极分化现象，导致出现在每片 ≤ 0.30 mg 数量与每片 ≥ 1.20 mg 数量均占较大比例，分别达 35.0%和 45.0%，含量远低于理论含量，结果见图 5。结合

与相关企业调研,推测这可能与各企业选用原料的含量差异、生产工艺流程里八角茴香油的加入方式与加入时间、干燥温度与时间、制粒到压片时间及包装气密性等因素均有关系。

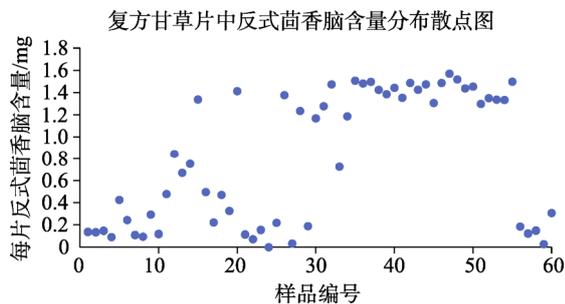


图4 复方甘草片反式茴香脑含量散点分布图
Fig. 4 Distribution map of trans-anethole content in Compound Liquorice Tablets

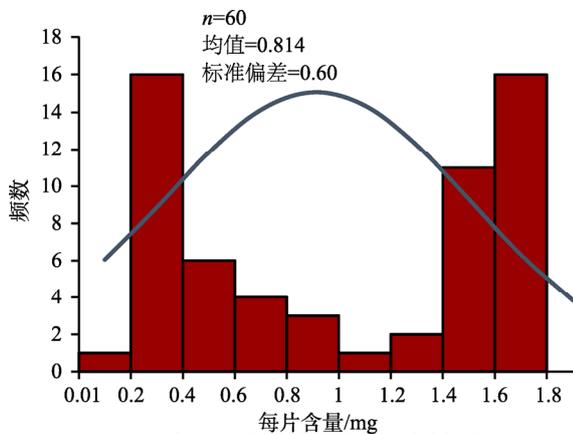


图5 复方甘草片反式茴香脑含量频数分布图
Fig. 5 Frequency distribution of trans-anethole content in Compound Liquorice Tablets

3.4 同一企业不同时期的复方甘草片中挥发性组分分析

通过深入分析 S1 公司的 30 批样品发现,尽管该企业复方甘草片中 2 种成分的含量相比其他企业偏高,但不同时期的产品差异显著,工艺稳定性有待加强,结果见表 4。其中 1 批(批号:1711028)样品樟脑与反式茴香脑的含量显著低于其他批次的产品,可能与该批生产工艺条件和产品接近效期,储存时间过长有关系。通过对比不同生产日期的产品,发现生产日期相近的产品中以上 2 种挥发性成分的含量差异较小,而生产时期相距较远的产品差异较大。通过对 S1 生产企业及所涉及的该厂家药品的经营企业调研发现,导致以上 2 种成分差异显著的原因可能主要为不同时期生产工艺条件差异所致。由于与挥发性成分

混合制粒后,需放置一段时间等待压片,放置所处的温湿度及等待压片的时间长短均可导致挥发性成分损失不同。同时,制剂储存运输过程中的温湿度变化及储存时间长短等因素均可影响 2 种成分的含量。

3.5 不同企业的复方甘草片中挥发性组分分析

17 家企业 60 批样品樟脑与反式茴香脑的含量结果(表 5)表明,各样品含量差异显著,S1 厂家含量高于其他厂家。通过对相关企业调研发现,这可能与各企业选用原料的含量差异、生产工艺流程里樟脑、八角茴香油的加入方式与加入时间、干燥温度与时间、制粒到压片时间及包装气密性等因素均有关系。其中 2 种成分在制粒过程中的加入方式及混合后的放置时间及放置环境可能是影响其含量的主要因素。目前 S1 厂家采用制粒过程中直接喷入 2 种挥发油的加入方式,严格控制制粒到压片的生产时间;同时为避免温湿度对挥发性成分影响,仅在每年 10 月至次年 5 月生产。相比其他企业,部分企业采取先用适量吸收剂(如二氧化硅等)将挥发油吸收后,再与其他干粒混匀压片,混合步骤多,暴露在空气中的时间长;部分企业为南方企业,且在夏季生产,温度高、湿度大,以上原因均可导致 2 种成分含量显著降低。下一步,笔者将进一步与企业进行对接,从原料质量、制剂工艺等各个方面,深入研究其与挥发性成分损失的关系,从而提高产品质量。

3.6 聚类分析

聚类分析是根据事物本身的特征研究个体分类的方法,可依据所测得样品的色谱特征数据,对样品进行分类,是目前常用的数据挖掘分析方法之一^[6-7]。本研究以 2 个含量结果为变量,运用 SPSS 23.0 统计软件,以平均 Euclidean 距离为度量标准,采用组间联接的方法对 17 个厂家的复方甘草片进行系统聚类分析,结果见图 6。由图可知,在组间距为 5 时,将 17 个厂家生产的复方甘草片分为 4 类,第 1 类有 Z1、F1、G1、GX1、B1、HE1、T1、A1、L1、N1、Q1、HB1;第 2 类有 J1、HL1;第 3 类有 H1、HN1;第 4 类有 S1。统计分析表明不同厂家存在差异。

结合 60 批复方甘草片法定检验结果分析发现,S1 厂家甘草酸含量明显优于其他厂家,与挥发性成分的聚类分析结果相一致,吗啡含量不同企业间无明显差异。

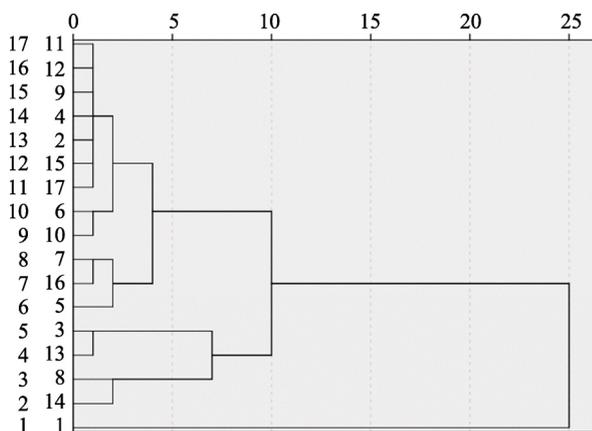


图6 17个厂家聚类分析结果
Fig. 6 Result of cluster analysis of 17 manufacturers

4 小结

本实验在进行色谱条件选择时,同时选用了极性、中等极性和弱极性的色谱柱进行分离,研究发现樟脑和反式茴香脑在中等极性和弱极性的色谱柱条件下出峰时间较长,而在极性色谱柱中出峰时间在15 min之内且能满足GC分析要求。

复方甘草片处方中樟脑和八角茴香油在常温下均易挥发,现行标准中没有樟脑与反式茴香脑的含量测定方法。通过对17个厂家60批样品中2类成分的含量分析可知,该产品中樟脑和反式茴香脑的含量远低于药典规定的处方量(每片2 mg),且不同企业间及同一企业不同批次间含量差异明显。结合对相关企业调研结果,推测这可能与各企业选用原料质量差异、生产工艺流程里2种组分的加入方式与加入时间、干燥温度与时间、制粒到压片及包装气密性等因素均有关系。为保证制剂的疗效,在生产和储存过程中控制其含量很有必要。建议企业可重点通过加强制剂生产质量控制和改善贮存条件2个环节提高挥发性成分含量。如在生产过程中,可通过优化加入挥发性成分的方式,考察最佳干燥温度及时间等工艺关键点;在包衣方面,可通过采用 β -环糊精包合工艺或对复方甘草片进行包衣等方式达到矫味和增强药物稳定性的目的^[8-9];在运输储存方面,对其储存

条件影响因素进行进一步考察,并在说明书中进行标注等。同时建议相关部门加大监管力度并尽快完善质量标准,增加对其他成分的含量及限度的要求,保障民众用药的安全性和有效性。

本研究建立的复方甘草片中挥发性组分的气相色谱方法简单方便,重复性好,可用于樟脑与反式茴香脑的定性鉴别和定量测定,同时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。

REFERENCES

- [1] GAO X H, HU Y Q, WANG H J, et al. HPLC fingerprints of Compound Licorice tablets and determination of seven constituents[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2020, 32(5): 734-741, 844.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2020: 960-961.
- [3] YAN H, SUN W Y, SUN G X, 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.
- [4] YAN H, SUN G X, CHI H X, et al. Quality consistency evaluation of Fufanggancao tablets based on the control mode of standard preparation and quantitative fingerprint[J]. Chin J Chromatogr(色谱), 2019, 37(11): 1200-1208.
- [5] WANG C S, WU L C, ZHU J. Simultaneous determination the contents of camphor and trans-anethol in Compound Licorice Tablets by capillary gas chromatography[J]. Strait Pharm J(海峡药学), 2013, 25(7): 110-112.
- [6] LIU T, WANG Q F, CHEN B L, et al. Quality evaluation of Pudilan Xiaoyan Tablets based on fingerprint and cluster analysis[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2020, 37(9): 1069-1074.
- [7] WANG M J, TANG T T, PAN L M, et al. Quality evaluation of Trichosanthis Fructus in different origin based on HPLC fingerprint and chemical pattern recognition[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2021, 38(8): 919-924.
- [8] JING M, LI J W, WU H Y. Research of hydroxypropyl-beta-cyclodextrin in the preparation of Compound Licorice Tablet[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2008, 14(3): 27-29.
- [9] 曹蕙姿. 一种复方甘草片及其制备方法: 中国, 201510475127.3[P]. 2015-10-28.

收稿日期: 2021-09-28
(本文责编: 曹粤锋)