

7组同名异型中成药微生物限度检查方法

滕钰, 薛咏兰, 黄婕, 罗曼, 王俊, 徐洪*

(贵州省食品药品检验所, 贵州 贵阳 550004)

摘要: 目的 建立7组同名异型中成药微生物限度检查方法。方法 按2015年版《中国药典》要求对药品进行微生物限度检查方法适用性研究, 并作组内比较。结果 各组药品计数方法回收比值基本都大于0.7, 控制菌检查均能检出阳性菌。其中, 4组不含药材原粉的药品微生物限度检查方法一致, 另外3组含药材原粉的不一致。结论 需氧菌计数最大稀释倍数为1:200, 霉菌和酵母计数最大稀释倍数为1:80, 所得回收比值为0.59~1.3, 均高于《中国药典》要求。该方法重复性好, 适用于同名异型中成药微生物限度的检查。

关键词: 同名异型中成药; 微生物; 限度检查

中图分类号: R927.1

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2019)10-2473-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.10.038

贵州省是全国四大中药产区之一, 医药产业也是其特色优势项目^[1], 故保证微生物限度检查方法的完整性与可靠性, 是保障当地药品安全的重要组成部分。同名异型中成药是指名称相同、剂型不同的中成药^[2], 贵州省食品药品检验所近年来相关研究涉及到7组该类型, 有的是同一药企产品, 有的为不同药企生产。包扩独家品种民族药、医院制剂, 剂型涉及到丸剂、胶囊、片剂、颗粒剂、洗剂、搽剂。现就上述药品微生物限度检查方法适用性研究过程及结果进行分析。

1 材料

1.1 样品 7组样品共涉及8家生产企业, 具体如下。

第1组: 日舒安湿巾(批号5076001、5076002、5076003)、日舒安洗液(批号4066049、4066080、4066110), 贵州汉方药业有限公司。

第2组: 妇科再造胶囊(批号1512003、2026008、2026012), 贵州汉方药业有限公司; 妇科再造丸(批号11717053、11717054、11717062), 贵州德昌祥药业有限公司。

第3组: 六味地黄胶囊(批号20170102、20170103、20170104), 贵州圣济堂制药有限公司; 六味地黄丸(批号DCXA0401、DCXA0421、DCXA0532), 贵州德昌祥药业有限公司。

第4组: 糖宁通络胶囊(批号20170601、20170901、20171001)、糖宁通络片(批号20160401、20161201、20170901), 贵州百灵企业集团制药股份有限公司。

第5组: 复方天麻颗粒(批号20170914、20170406、20170710), 贵州科辉制药有限责任公司; 复方天麻片(批号20161003、20170301、20170702), 贵州百灵企业集团制药股份有限公司。

第6组: 枇杷止咳颗粒(批号180313、180314、

180315)、枇杷止咳胶囊(批号180402、180403、180404), 贵州神奇药业有限公司。

第7组: 护肝宁片(批号20180104、20180201、20180203), 贵州信邦制药股份有限公司; 护肝宁胶囊(批号20160385、20180386、20160387), 贵州益佰制药股份有限公司。

其中, 第1、2组为独家品种, 第4组为医院制剂。

1.2 菌种 黑曲霉[CMCC(F)98003]、枯草芽孢杆菌[CMCC(B)63501]、白色念珠菌[CMCC(F)98001]、金黄色葡萄球菌[CMCC(B)26003]、铜绿假单胞菌[CMCC(B)10104]、生孢梭菌[CMCC(B)64941]、大肠埃希菌[CMCC(B)44102]、乙型副伤寒沙门菌[CMCC(B)50094], 均由中国食品药品检定研究院提供。

1.3 试剂与培养基 吐温-80(成都金山化学试剂, 批号20170606)。梭菌增菌培养基(批号17070161)、哥伦比亚琼脂培养基(批号1707171)、胰酪大豆胨液体培养基TSB(批号18030965)、胰酪大豆胨琼脂培养基TSA(批号18042762)、紫红胆盐葡萄糖琼脂培养基(批号17061281)、溴化十六烷基三甲铵琼脂培养基基础(批号1512232)、沙氏葡萄糖琼脂培养基SDA(批号18010864)、沙氏葡萄糖液体培养基SDB(批号18073161)、肠道增菌培养基(批号1609072)、甘露醇氯化钠琼脂培养基(批号1610083)、麦康凯液体培养基(批号1703139)、麦康凯琼脂培养基(批号1604055)、木糖赖氨酸脱氧胆酸琼脂(批号17050483), 均购于北京陆桥技术股份有限公司; RV沙门菌增菌液体培养基(批号3303081), 购于广东环凯微生物科技有限公司。

1.4 仪器 生物安全柜(美国NuAire实验设备公司, 型号NU-425-400E); 低温恒温培养箱(型号KB240)、电热

收稿日期: 2018-12-25

基金项目: 贵阳市科技计划项目(筑科合同[2017]29-10)

作者简介: 滕钰(1987—), 女, 硕士, 主管技师, 研究方向为微生物检验。Tel: (0851) 86808181, E-mail: 434640096@qq.com

* 通信作者: 徐洪(1975—), 男, 副主任药师, 研究方向为药品检验。E-mail: 438846671@qq.com

恒温培养箱(型号BF240)(德国宾德公司);立式自动压力蒸汽灭菌器[致微(厦门)仪器有限公司,型号GR85DA];电子天平(梅特勒-托利多国际有限公司,型号ME2002)。

2 方法与结果

2.1 供试液制备 按2015年版《中国药典》四部通则1105^[3]要求进行制备。其中,日舒安洗液、咳速停糖浆取样量为10 mL,日舒安湿巾取样量为100 cm²,其余品种取样量为10 g,分别加TSB至100 mL,制成1:10供试液,再据品种实际情况选择合适稀释倍数进行预试验。

2.2 菌液制备 按2015年版《中国药典》四部通则1105、1106^[3]要求进行制备。

2.3 回收比值计算 计数方法适用性试验中,回收比值=(试验组菌落数-供试品对照组菌落数)/菌液对照组菌落数^[3],添加中和剂组的中和剂回收比值=(中和剂对照组菌落数-供试品对照组菌落数)/菌液对照组菌落数^[4]。

2015年版《中国药典》^[3]规定,回收比值应在0.5~2之间,本实验将其下限提升至0.7左右,以保证该方法在之后日常检验中重复性更佳。

2.4 计数方法适用性试验

2.4.1 分组 试验组,按要求在供试液加入“2.2”项下菌液,使每1 mL供试液中的加菌量不大于100 cfu,混匀;供试品对照组,取供试液,以TSB代替菌液,其他同试验组;菌液对照组,取TSB替代供试液,其他同试验组;中和剂对照组,取含1%吐温-80的TSB代替供试液,其他同试验组。以上4组均取1 mL混合液,置于90 mm培养皿中,需氧菌总数计数对应组加入20 mL TSA培养基,霉菌、酵母菌计数对应组加入20 mL SDA培养基,分别放至34、23℃培养箱中培养3、5 d,计数记录。

2.4.2 预试验 据药品品种成分^[5-24]及企业反馈信息,分别在合适稀释倍数下选择各品种对应的敏感菌株进行预试验,结果见表1。

表1 预试验回收比值

| 组别 | 品种 | 试验菌 | 稀释倍数 | | | | | | |
|----|---------------|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-------|
| | | | 1:10 | 1:20 | 1:40 | 1:50 | 1:80 | 1:100 | 1:200 |
| 1 | 日舒安洗液/日舒安湿巾 | 金黄色葡萄球菌 | 0.45/0.44 | 0.80/0.78 | - | - | - | - | - |
| | | 枯草芽孢杆菌 | 0.19/0.25 | 0.45/0.48 | 0.77/0.81 | - | - | - | - |
| | | 黑曲霉(TSA) | 0.42/0.40 | 0.93/0.91 | - | - | - | - | - |
| 2 | 妇科再造胶囊/妇科再造丸 | 金黄色葡萄球菌 | 0.92/0.86 | - | - | - | - | - | - |
| | | 枯草芽孢杆菌 | 0.75/0.88 | - | - | - | - | - | - |
| | | 白色念珠菌(TSA) | 0.91/0.54 | - | -1.0 | - | - | - | - |
| 3 | 六味地黄胶囊/六味地黄丸 | 金黄色葡萄球菌 | 0.99/0.34 | -0.79 | - | - | - | - | - |
| | | 枯草芽孢杆菌 | 0.72/0.81 | - | - | - | - | - | - |
| | | 铜绿假单胞菌 | 0.85/0 | -0.23 | -0.42 | - | - | -0.81 | - |
| 4 | 糖宁通络片/糖宁通络胶囊 | 枯草芽孢杆菌 | 1.1/0.52 | - | - | -0.79 | - | - | - |
| | | 铜绿假单胞菌 | 0.16/0.78 | - | - | 0.77/0.88 | - | - | - |
| | | 白色念珠菌(TSA) | 0.36/0.54 | - | - | 0.67/0.65 | - | 1.1/0.92 | - |
| 5 | 复方天麻颗粒/复方天麻片 | 金黄色葡萄球菌 | 0.36/0.51 | - | - | 0.62/0.67 | 0.78/0.97 | - | - |
| | | 枯草芽孢杆菌 | 1.1/0.91 | - | - | - | - | - | - |
| | | 白色念珠菌(SDA) | 0.95/0.93 | - | - | - | - | - | - |
| 6 | 枇杷止咳颗粒/枇杷止咳胶囊 | 金黄色葡萄球菌 | 0.98/0.96 | - | - | - | - | - | - |
| | | 枯草芽孢杆菌 | 0.92/0.89 | - | - | - | - | - | - |
| | | 白色念珠菌(SDA) | 0.93/0.90 | - | - | - | - | - | - |
| 7 | 护肝宁片/护肝宁胶囊 | 金黄色葡萄球菌 | 0.94/0.92 | - | - | - | - | - | - |
| | | 铜绿假单胞菌 | 0/0 | - | - | 0.47/0.38 | - | 0.79/0.62 | -0.93 |
| | | 枯草芽孢杆菌 | 0.79/0.83 | - | - | - | - | - | - |
| | | 金黄色葡萄球菌 | 0/0 | - | - | 0.53/0.27 | - | 0.98/0.56 | -0.97 |
| | | 白色念珠菌(SDA) | 0.86/0.90 | - | - | - | - | - | - |

注:./表示组内品种分隔线,-表示未进行该项试验

由表可知,第1组样品对枯草芽孢杆菌抑制较强,当稀释倍数到1:40时回收比值能达到要求,但其为阴道给药,计数限度较低,故考虑添加中和剂以消除供试品抑菌活性,减小稀释倍数。第2组样品中,丸剂对白色念珠菌有抑制作用,对需氧菌、霉菌和酵母计数方法需分别扩大稀释倍数至1:40、1:20。第3组中丸剂对枯草芽孢杆菌抑菌性很强,1:10时回收比值为0,稀释倍数为1:100时能消除抑菌性。在稀释倍数为1:50时,第4组样品对枯草芽孢杆菌、铜绿假单胞菌的抑菌性消除效果好;在需

氧菌、霉菌和酵母计数方法考察中,对白色念珠菌的稀释倍数分别为1:100、1:80时可很好地消除抑菌性。第7组中片剂和胶囊的稀释倍数分别为1:100、1:200时,能较好消除对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌抑制作用。

然后,采用含1%吐温-80的TSB作为稀释液,对第1组样品进行预试验,结果见表2,可知吐温-80可有效消除该品种对3株菌的抑菌作用,而且对试验菌的生长无明显影响。再通过预试验回收比值结果确定供试液稀释倍数,见表3。

表2 日舒安洗液、日舒安湿巾添加中和剂预试验回收比值

| 品种 | 金黄色葡萄球菌 | | 枯草芽孢杆菌 | | 黑曲霉(TSA) | | 黑曲霉(SDA) | |
|--------|---------|------|--------|------|----------|------|----------|------|
| | 1:10 | 1:20 | 1:10 | 1:20 | 1:10 | 1:20 | 1:10 | 1:20 |
| 日舒安洗液 | 0.91 | — | 0.49 | 0.84 | 1.1 | — | 1 | — |
| 日舒安湿巾 | 0.88 | — | 0.47 | 0.79 | 0.99 | — | 0.97 | — |
| 中和剂对照组 | 1 | | 0.98 | | 0.95 | | 1 | |

注:—表示未进行该项试验

表3 计数方法稀释倍数

| 组别 | 品种 | 稀释倍数 | |
|----|--------|-------|----------|
| | | 需氧菌计数 | 霉菌和酵母菌计数 |
| 1 | 日舒安洗液 | 1:20 | 1:10 |
| | 日舒安湿巾 | 1:20 | 1:10 |
| 2 | 妇科再造胶囊 | 1:10 | 1:10 |
| | 妇科再造丸 | 1:40 | 1:20 |
| 3 | 六味地黄胶囊 | 1:10 | 1:10 |
| | 六味地黄丸 | 1:100 | 1:10 |
| 4 | 糖宁通络片 | 1:100 | 1:80 |
| | 糖宁通络胶囊 | 1:100 | 1:80 |
| 5 | 复方天麻颗粒 | 1:10 | 1:10 |
| | 复方天麻片 | 1:10 | 1:10 |
| 6 | 枇杷止咳颗粒 | 1:10 | 1:10 |
| | 枇杷止咳胶囊 | 1:10 | 1:10 |
| 7 | 护肝宁片 | 1:100 | 1:10 |
| | 护肝宁胶囊 | 1:200 | 1:10 |

2.4.3 正式试验 根据表3中的稀释倍数,进行各品种3个批次计数方法的适用性试验,结果见表4。由表可知,除六味地黄胶囊的金黄色葡萄球菌回收比值稍低外,其余品种均基本在0.7以上,表明该计数方法能较好地保证其重复性,方法可行。另外,结合表3~4可知,第1、4~6组内样品计数方法一致,而第2~3、7组内样品计数方法不同。

2.5 控制菌检查方法适用性试验

2.5.1 检查项目与方法 按照2015年版《中国药典》四部通则1106、1107规定^[3],以给药途径和是否含药材原粉为指标确定了控制菌检查项目:阴道给药制剂需控制金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、白色念珠菌和生孢梭菌,固体口服制剂均需控制大肠埃希菌,含药材原粉的还需控制沙门氏菌和耐胆盐革兰阴性菌。根据7组样品情况,参照黎春彤^[25]、李力等^[26]报道的方法,结合药典规定,在规

表4 各品种计数方法适用性试验结果

| 品种 | 需氧菌计数(TAMC)霉菌和酵母菌计数(TYMC) | | | | | | |
|--------|---------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | 金黄色葡萄球菌 | 枯草芽孢杆菌 | 铜绿假单胞菌 | 白色念珠菌 | 黑曲霉 | 白色念珠菌 | 黑曲霉 |
| 日舒安洗液 | 0.98,1.1,1.1 | 0.81,0.82,0.93 | 1.2,1.1,1.1 | 1.0,1.1,0.89 | 1.1,1.1,0.97 | 0.97,0.81,0.82 | 0.99,0.99,1.1 |
| 日舒安湿巾 | 1.1,1.1,1.2 | 0.77,0.79,0.89 | 1.1,0.93,1.2 | 0.97,0.93,0.94 | 0.97,1.1,0.99 | 0.93,1.0,1.1 | 1.2,0.99,1.1 |
| 妇科再造胶囊 | 0.94,1.0,0.94 | 1.0,0.98,0.99 | 0.95,0.97,0.94 | 0.92,0.93,0.89 | 0.94,0.91,0.98 | 1.1,0.99,0.93 | 0.91,0.94,0.90 |
| 妇科再造丸 | 1.1,1.1,1.1 | 0.88,0.89,0.86 | 0.89,0.85,0.88 | 1.1,0.99,1.0 | 0.88,0.84,0.84 | 0.77,0.77,0.76 | 0.88,0.86,0.85 |
| 六味地黄胶囊 | 0.68,0.59,0.77 | 0.95,1.0,0.94 | 0.81,0.82,0.84 | 0.83,0.81,0.84 | 0.91,0.96,1.2 | 0.86,0.87,0.86 | 0.92,0.94,0.89 |
| 六味地黄丸 | 1.1,1.0,1.3 | 0.92,0.97,1.2 | 0.84,0.85,0.85 | 0.89,0.92,0.98 | 0.98,0.93,1.0 | 1.1,1.1,1.2 | 0.98,0.95,0.94 |
| 糖宁通络片 | 0.92,0.98,1.1 | 0.99,1.0,0.94 | 1.0,1.0,0.99 | 0.92,0.93,0.99 | 0.95,0.93,0.98 | 0.94,0.84,0.85 | 0.94,0.97,1.0 |
| 糖宁通络胶囊 | 0.90,0.94,0.92 | 0.72,0.75,0.79 | 0.88,0.89,0.94 | 0.88,0.91,0.89 | 0.92,0.87,0.92 | 0.94,1.0,1.0 | 1.1,0.98,1.0 |
| 复方天麻颗粒 | 0.92,0.91,0.84 | 1.0,1.0,1.0 | 1.1,1.0,1.2 | 0.84,0.86,0.83 | 0.93,0.95,0.91 | 0.82,0.68,0.76 | 1.2,0.98,1.3 |
| 复方天麻片 | 0.96,0.92,0.91 | 0.94,0.97,0.96 | 0.77,0.78,0.73 | 0.88,0.99,0.94 | 0.82,0.83,0.82 | 0.95,0.95,0.95 | 0.91,0.92,0.91 |
| 枇杷止咳颗粒 | 1.2,1.2,0.94 | 0.98,1.0,0.91 | 0.94,0.99,0.96 | 0.95,0.99,0.91 | 0.89,0.94,0.96 | 0.99,1.2,1.0 | 0.94,0.92,0.88 |
| 枇杷止咳胶囊 | 0.79,0.86,0.91 | 0.92,0.9,1.0 | 0.87,0.89,0.87 | 0.90,0.92,0.89 | 0.78,0.84,0.80 | 0.82,0.94,0.99 | 0.83,0.78,0.81 |
| 护肝宁片 | 0.8,0.95,0.93 | 1.0,1.0,1.1 | 0.87,0.91,0.90 | 0.79,0.82,0.79 | 0.87,0.91,0.93 | 0.84,0.85,0.87 | 0.93,0.92,0.90 |
| 护肝宁胶囊 | 0.96,0.87,0.95 | 1.1,1.1,1.1 | 0.85,0.91,0.94 | 0.91,0.89,0.93 | 0.79,0.81,0.83 | 0.96,0.98,1.1 | 0.88,0.96,0.93 |

定温度和最短时间下培养,以期检出所加试验菌相应的反应特征^[3]。

2.5.2 结果分析 当培养基体积如表5所示时,能检出相应阳性对照菌,表明该方法可行。其中,第1组样品需培养基稀释法才能去除抑菌作用;第2组样品需采用培养基稀释法才能检出沙门氏菌和耐胆盐革兰阴性菌阳性对照菌;第3组胶囊剂对大肠埃希菌和沙门氏菌的抑制作用较丸剂弱,但其耐胆盐革兰阴性菌需采用比同组丸剂更大的培养基稀释倍数才能消除对阳性对照菌的抑制;第7组样品采用培养基稀释法检查沙门氏菌;其余组别样品控制菌用常

规方法即可检出。

3 讨论

方法适用性试验的本质是建立对样品影响更小、操作得率更高的方法^[27],但其本身工作量大,而且存在不同实验室方法欠佳、重复劳动过多的问题^[28],去除药品抑菌性是其中的重点和难点^[29]。因此,本实验在研究前对样品组分抑菌性进行分析以确定预试验菌株,再根据药典对不同给药途径的限度规定,确定最终的计数方法;对控制菌检查法,主要结合给药途径、是否含药材原粉2个方面来开展研究,能有效提高方法适用性试验的效率。

表5 控制菌检查方法适用性试验结果

| 组别 | 品种 | 给药途径 | 含药材原粉 | 控制菌培养基体积/mL | | | | | | |
|----|--------|--------|-------|-------------|------|----------|---------|--------|-------|------|
| | | | | 大肠埃希菌 | 沙门氏菌 | 耐胆盐革兰阴性菌 | 金黄色葡萄球菌 | 铜绿假单胞菌 | 白色念珠菌 | 生孢梭菌 |
| 1 | 日舒安洗液 | 阴道给药制剂 | 否 | — | — | — | 500 | 200 | 200 | 200 |
| | 日舒安湿巾 | | 否 | — | — | — | 500 | 200 | 200 | 200 |
| 2 | 妇科再造胶囊 | 固体口服制剂 | 是 | 100 | 200 | 15 | — | — | — | — |
| | 妇科再造丸 | | 是 | 100 | 200 | 15 | — | — | — | — |
| 3 | 六味地黄胶囊 | 固体口服制剂 | 是 | 100 | 100 | 20 | — | — | — | — |
| | 六味地黄丸 | | 是 | 200 | 200 | 15 | — | — | — | — |
| 4 | 糖宁通络片 | 固体口服制剂 | 否 | 100 | — | — | — | — | — | — |
| | 糖宁通络胶囊 | | 否 | 100 | — | — | — | — | — | — |
| 5 | 复方天麻颗粒 | 固体口服制剂 | 否 | 100 | — | — | — | — | — | — |
| | 复方天麻片 | | 否 | 100 | — | — | — | — | — | — |
| 6 | 枇杷止咳颗粒 | 固体口服制剂 | 否 | 100 | — | — | — | — | — | — |
| | 枇杷止咳胶囊 | | 否 | 100 | — | — | — | — | — | — |
| 7 | 护肝宁片 | 固体口服制剂 | 是 | 100 | 200 | 10 | — | — | — | — |
| | 护肝宁胶囊 | | 是 | 100 | 200 | 10 | — | — | — | — |

由于中药材品种繁多、临床要求不同、药材所含成分之间相互作用关系复杂等原因，需将药材制成各种不同剂型以满足用药需要^[30]。本实验中7组同名异型中成药原药材、功能主治一致，但由于剂型不同，其生产工艺与辅料会有所差异，最终导致抑菌活性的区别。刘康连等^[31]曾对同一企业生产的5组含药材原粉的同名异型中药制剂进行微生物限度检查方法适用性研究，发现均存在方法差异；本实验发现，含药材原粉的不同剂型中成药微生物限度检查方法均不一致，尤其在计数方法上的差别较明显，这与前期报道结果一致；对于不含药材原粉的不同剂型中成药，虽然某些试验菌回收比值存在差异，但即使不属于同一企业生产，也可以做到方法统一。

参考文献:

[1] 方亚丽, 王 法. 创新模式打造大健康医药全产业链[J]. 当代贵州, 2018(10): 50-51.

[2] 文洪宇, 张西俭, 杨 娟, 等. 同名不同剂型中成药的方效异同辨议[J]. 中国医院药学杂志, 2005, 25(9): 888-889.

[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015年版四部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 140-150.

[4] 闵 红, 杨晓莉, 李 翠, 等. 复方氯己定地塞米松膜微生物检查方法学研究[J]. 中国抗生素杂志, 2018, 43(7): 881-886.

[5] 何前松, 冯 泳, 杜洪志, 等. 多指标评价苦参洗液的提取工艺研究[J]. 中药材, 2018, 41(6): 1436-1439.

[6] 赵锦慧, 赖 颖, 葛红莲, 等. 马鞭草提取液对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌生长的影响[J]. 湖北农业科学, 2012, 51(20): 4524-4526.

[7] 张 霞, 孙宝忠, 哈斯格根, 等. 五倍子抑菌物质的提取及其抑菌作用的研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(7): 290-294.

[8] 李 敏. 五倍子提取物抑菌效果及稳定性研究[J]. 氨基酸和生物资源, 2016, 38(3): 48-52.

[9] 陈 惠, 赵鑫荟, 艾启俊. 3种中草药对沙门氏菌的抑制机理初探[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(25): 10275-10277.

[10] 李鹏飞, 张 瑜, 张 超, 等. 艾叶等中药及配伍合剂对致病菌的体外抑菌活性的研究[J]. 海南医学, 2018, 29(16): 2305-2308.

[11] 张乃丹. 覆盆子多酚提取工艺及不同溶剂提取物抗氧化抑菌活性[D]. 杭州: 浙江农林大学, 2013.

[12] 王 雪, 刘燕隔, 逯家辉, 等. 黄芩中抗菌有效成分提取工艺研究[J]. 生物质化学工程, 2015, 49(5): 34-38.

[13] 邓凯伟, 张露璐, 赵云焕. 中草药对大别山地区奶牛隐性乳腺炎病原菌的抑菌试验[J]. 上海畜牧兽医通讯, 2018(4): 15-17.

[14] 范 钊, 陈遇英. 中药不同提取方法对两种病原菌的抑制研究[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2017, 29(3): 29-34.

[15] 江 丽, 单萍萍, 申国庆, 等. 中药对瘰疬致病菌的体外抑菌活性的实验研究[J]. 药学与临床研究, 2014, 22(4): 315-318.

[16] 苟 成. 车前草提取物及其有效成分的抗菌活性研究[D]. 延吉: 延边大学, 2015.

[17] 刘 岚, 李 荣. 山银花药用成分的提取及抑菌活性研究[J]. 中南医学科学杂志, 2012, 40(3): 298-300.

[18] 徐 威, 王耀斌, 周彦宇, 等. 仙鹤草收敛止血功能及体外抑菌实验[J]. 天然产物研究与开发, 2016, 28(7): 1020-1023; 1054.

[19] 陈伊铃. 黄芩及天麻有效成分提取工艺优化和抗菌活性研究[D]. 长春: 吉林大学, 2017.

[20] 肖新生, 林倩英. 枇杷叶提取物抑菌作用研究[J]. 现代食品科技, 2010, 26(1): 59-62.

[21] 魏熙婷, 陈晓霞, 侯 影, 等. 生、炙百部体内外抑制白色念珠菌作用比较[J]. 亚太传统医药, 2012, 8(10): 9-11.

[22] 公衍玲, 黄 山, 于慧荣. 垂盆草总黄酮的酶法提取及其抑菌活性[J]. 药学实践杂志, 2010, 28(2): 114-

- 115; 153.
- [23] 李娜, 邹龙云, 刘立生, 等. 菌药共孵育-平皿法检测虎杖体外抑菌活性[J]. 南昌大学学报(医学版), 2018, 58(2): 23-26.
- [24] 彭丹, 马琼丽, 陈泽慧, 等. 40种中药提取物对6种临床常见感染菌株的体外抑菌活性观察[J]. 山东医药, 2017, 57(27): 27-30.
- [25] 黎春彤, 王晶, 段斯庭, 等. 醒脑聪胶囊微生物限度检验方法的建立[J]. 现代中药研究与实践, 2018, 32(3): 39-41.
- [26] 李力, 杨柳, 解小霞, 等. 妇科洗剂微生物限度检查法的适用性考察[J]. 中国药师, 2018, 21(9): 1678-1680.
- [27] 马仕洪, 刘鹏, 杨利红, 等. 药品微生物限度检查方法适用性试验中加菌方式的实验研究[J]. 药物分析杂志, 2018, 38(5): 877-882.
- [28] 庞云娟, 樊文研, 刘康连, 等. 药品微生物限度检查方法学验证的研究进展[J]. 中成药, 2017, 39(10): 2137-2140.
- [29] 国家药典委员会. 中国药典分析检测技术指南[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2017: 568.
- [30] 马秉智. 从剂型角度谈中成药合理用药[J]. 药品评价, 2012, 9(23): 15-17.
- [31] 刘康连, 庞云娟, 周晓婷. 5种同名异型中药制剂微生物限度检查法的建立与结果分析[J]. 中成药, 2017, 39(7): 1515-1518.

藿胆滴丸中百秋李醇的测定方法及其局限性

胡端龙, 奚静芳, 张国明*

(上海雷允上药业有限公司技术中心, 上海 201401)

摘要: 目的 建立 GC 法测定藿胆滴丸(猪胆酸、广藿香油)中百秋李醇含量。方法 该药物乙酸乙酯提取液的分析采用 HP-5 毛细管柱; 柱温 120~170 ℃; 检测器、进样口温度 280 ℃; 进样分流比 10:1。结果 百秋李醇在 0.100 7~1.208 μg 范围内呈良好的线性关系 ($r=0.999\ 9$), 平均加样回收率为 98.65%, RSD 为 1.56%。结论 该方法简便、准确、快速、重复性好, 可用于藿胆滴丸的质量控制, 但因广藿香油自身特性, 使本法的质量评价存在一定的局限性。

关键词: 藿胆滴丸; 百秋李醇; GC

中图分类号: R927.2

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2019)10-2477-03

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.10.039

藿胆滴丸(原名清肝保脑滴丸)是上世纪 70 年代末由上海中药制药一厂在古方清肝保脑丸的基础上技术升级、开发上市的新剂型, 收载于上海市药品标准(1993 年版)。2001 年在地标升国标中, 又建立了薄层扫描色谱(TLCS)法测定猪去氧胆酸含量, 以及 TLC 法定性鉴别百秋李醇, 并正式命名为“藿胆滴丸”, 其执行标准为国家药品标准[WS-11486(ZD-1486)-2002-2012Z]。该制剂具有清热化浊、宣通鼻窍功效, 用于风寒化热、胆火上攻引起的鼻塞欠通、鼻渊头痛, 目前主要应用于慢性鼻炎、鼻窦炎等的治疗, 疗效显著, 安全性高^[1-2], 与西药联合时还可治疗上呼吸道感染^[3]和化脓性鼻窦炎^[4]。

藿胆滴丸由猪胆酸、广藿香油组成, 目前已有高效液相-蒸发光散射(HPLC-ELSD)法检测前者含有量的报道^[5], 但尚未涉及后者, 2015 年版《中国药典》中相关项下有百秋李醇含量测定标准^[6]。广藿香油是唇形科刺蕊

草属植物广藿香 *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. 中提取的挥发油, 具有国际标准^[7], 它不同于唇形科藿香属植物(土)藿香^[8], 两者挥发油成分差异很大, 其含量测定方法既有 GC-MS 的全成分分析^[9], 也有 HPLC 法检测广藿香酮^[10]和胡薄荷酮^[11], 而百秋李醇以 GC 法为主^[6,12], 该方法也可测定广藿香酮^[13-14]或一些含该成分的中成药制剂^[15-18]。因此, 本实验建立 GC 法测定藿胆滴丸中百秋李醇含量, 以期用于该制剂的质量控制。

1 材料

Agilent 6890N 气相色谱仪, 配置 FID 检测器。百秋李醇对照品(批号 110772-201105, 中国食品药品检定研究院)。藿胆滴丸(50 mg/丸, 上海雷允上药业有限公司, 批号 150201、150202、150203)。乙酸乙酯为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 HP-5 毛细管柱; 柱温初始 120 ℃, 保持

收稿日期: 2018-11-19

作者简介: 胡端龙(1983—), 男, 硕士, 从事中药研发。Tel: 13080609690, E-mail: huduanlong@163.com

*通信作者: 张国明(1958—), 男, 硕士, 教授级高级工程师, 研究方向为中药和天然药物。Tel: (021) 37565589-127, E-mail: zgm1271@126.com