

银丹解毒颗粒质量标准的建立及急性毒性试验

刘敏^{1,2}, 陈丽芳^{1,2}, 田佳懿^{1,2}, 刘洋^{1,2}, 张轩齐³, 刘炜^{1,4*} (1. 首都医科大学附属北京世纪坛医院药学部, 北京 100038; 2. 临床合理用药评价北京市重点实验室, 北京 100038; 3. 中国药科大学工学院, 南京 210009; 4. 首都医科大学附属北京佑安医院药学部, 北京 100069)

摘要 目的: 建立银丹解毒颗粒的质量标准并进行急性毒性试验。方法: 采用高效液相色谱法(HPLC)测定银丹解毒颗粒中黄芩苷的含量, 采用Agilent Eclipse SB-C₁₈色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 以甲醇-水-磷酸(47:53:0.2)为流动相, 流速1.0 mL·min⁻¹, 检测波长280 nm, 柱温30 °C, 进样量10 μL。采用薄层色谱法(TLC)定性鉴别银丹解毒颗粒中的金银花、黄芩、麻黄、桑白皮。急毒试验设置阴性对照组和银丹解毒颗粒给药组, 连续观察14天并记录相关指标。结果: 黄芩苷进样量在0.8072~10.09 μg范围呈良好线性关系($r=0.9998$), 平均回收率为98.72%, RSD=1.98% ($n=9$); 精密度、稳定性、重复性试验的RSD均小于2%。金银花、黄芩、麻黄、桑白皮的TLC图特征性斑点清晰, 分离度好, 专属性强, 阴性对照无干扰。大鼠银丹解毒颗粒单日灌胃给药169.80 g·kg⁻¹, 相当于临床剂量的57.52倍, 未见明显毒性。结论: 建立的方法操作简便、精确度高、结果可靠, 可用于银丹解毒颗粒的质量控制; 银丹解毒颗粒临床剂量安全可靠。

关键词: 银丹解毒颗粒; 质量标准; 高效液相色谱法; 急毒试验

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2022)03-0313-09

doi:10.16153/j.1002-7777.2022.03.012

Establishment of Quality Standards for Yindan Jiedu Granules and Its Acute Toxicity Test

Liu Min^{1,2}, Chen Lifang^{1,2}, Tian Jiayi^{1,2}, Liu Yang^{1,2}, Zhang Xuanqi³, Liu Wei^{1,4*} (1. Department of Pharmacy, Beijing Shijitan Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing, 100038, China; 2. Beijing Key Laboratory for Evaluation of Clinical Rational Drug Use, Beijing 100038, China; 3. School of Engineering, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China; 4. Department of Pharmacy, Beijing You'an Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100069, China)

Abstract Objective: To establish the quality standards for Yindan Jiedu Granules and test its acute toxicity.

Methods: High performance liquid chromatography (HPLC) method was used to measure the content of baicalin in Yindan Jiedu Granules. The Agilent Eclipse SB-C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm) column was used as the analytical column, and the methanol-water-phosphoric acid (47: 53: 0.2) was used as the mobile phase with the flow rate of 1.0 mL·min⁻¹, the detection wavelength of 280 nm, the column temperature of 30 °C and

基金项目: 国家自然科学基金面上基金资助项目(编号82073741); 北京市属医院科研培育计划(编号PZ20190701); 首都医科大学附属北京世纪坛医院青年基金(编号2017q-45); 银丹解毒颗粒医疗机构制剂备案研究(编号2020-B06)

作者简介: 刘敏 Tel: (010) 63926353; E-mail: liumin3297@bjsjth.cn

通信作者: 刘炜 Tel: (010) 83997776; E-mail: liuwei8090@126.com

the injection volume of 10 μL . Thin layer chromatography (TLC) was adopted to identify the honeysuckle, scutellaria, ephedra and mulberry bark in Yindan Jiedu Granules. A negative control group and a Yindan Jiedu Granules administration group were set in the emergency drug test, and the relevant indexes were recorded for 14 consecutive days. **Results:** The injection amount of baicalin showed a good linear relationship ($r=0.9998$) in the ranges of 0.8072~10.09 μg . The average recovery rate was 98.72%, the RSD value was 1.98% ($n=9$), and the RSD values of precision, stability and repeatability tests were all less than 2%. The characteristic spots of TLC diagrams of honeysuckle, scutellaria, ephedra and mulberry bark were clear with good separation, strong specificity and no interference from the negative control group. The oral administration of Yindan Jiedu Granules in rats was 169.80 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ on a single day, which was 57.52 times of the clinical dose, and no obvious toxicity was found. **Conclusion:** The established method is easy to operate, and it has high accuracy and reliable results, so it can be used for the quality control of Yindan Jiedu Granules. The clinical dose of Yindan Jiedu Granules is safe and reliable.

Keywords: Yindan Jiedu Granules; quality standards; HPLC; acute toxicity test

新型冠状病毒肺炎是一种急性感染性肺炎,具有潜伏期长、传染性高、人群普遍易感等特点,全球感染人数与日俱增^[1],严重危及公众健康,也给全球的经济造成巨大损失。目前临床上还没有针对性的有效药物^[2]。根据新型冠状病毒肺炎的相关特点,可将其归属为中医学“疫病”的范畴。中医药在疫病的防控方面具有独特的治疗优势及全面的理论体系,历代中医古籍中记载了众多疫情防治的相关史料,在此次疫情防控中做出了重大的贡献^[3]。

银丹解毒颗粒是针对新型冠状病毒肺炎研制的中药颗粒剂。前期临床研究^[4-5]显示,银丹解毒方在治疗新冠肺炎普通型、重型和危重型病例方面具有一定疗效。在该项研究纳入治疗的近百例患者中,与抗病毒治疗组相比较,银丹解毒组的总体治愈出院率(81.1%)明显高于抗病毒组(59.5%),两组具有显著的统计学差异($P < 0.05$)。银丹解毒方可通过改善患者的症状、促进肺部炎症吸收等作用来提高总体治愈出院率,缩短患者病程^[4]。

银丹解毒颗粒由黄芩、金银花、麻黄、桑白皮、葶苈子等11味中药组成,具有宣肺透邪、解毒凉血的功效。方中黄芩、金银花为君药,宣肺清热、透邪外出;麻黄、桑白皮、葶苈子为臣药,宣肺止咳、泄热平喘。本研究参考相关文献^[6-8],采用高效液相色谱法(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)测定银丹解毒颗粒中黄芩苷的含量,采用薄层色谱法(Thin Layer Chromatography, TLC)鉴别银丹解毒颗粒中的金银花、黄芩、麻黄、桑白皮4味中药,最终建立了银

丹解毒颗粒的质量标准并进行了急性毒性试验,为银丹解毒颗粒的质量控制以及临床用药安全性提供依据。该制剂已通过北京市药品监督管理局抗新冠肺炎医疗机构制剂的应急审批,补充了疫情防控用药品的不足。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

1260型高效液相色谱仪(安捷伦科技有限公司); BT125D 1电子分析天平(赛多利斯集团); TYHD-480 超声清洗器(北京天佑恒达科技有限公司); HH-ZK4 恒温水浴锅(金城海澜仪器制造厂); ZF-7 紫外检测灯(上海硕光电子科技有限公司)。

1.2 药品与试药

黄芩苷对照品(批号110715-201821,纯度98.66%)、盐酸麻黄碱对照品(批号171241-201508)、桑白皮对照药材(批号121124-201608)、金银花对照药材(批号121060-201608)、黄芩对照药材(批号20955-201810)均购于中国食品药品检定研究院。

银丹解毒颗粒样品(批号20200304、2020329、20200331、202004010、20200414,北京世纪坛医院制剂室自制);麻黄阴性样品(批号20200304)、桑白皮阴性样品(批号:20200304)、金银花阴性样品(批号20200304)、黄芩阴性样品(批号20200304)均由北京世纪坛医院制剂室自制。干膏粉(北京世纪坛医院制剂室自制,批号20200320),乙醚、正丁醇、二氯甲烷、丙酮、乙酸乙酯、浓氨试液、浓硫酸、三氯化铁、

磷酸（均为分析纯，购自国药集团化学试剂有限公司）；甲醇（色谱纯，购自 Fisher 公司）。

1.3 动物

SPF 级 SD 大鼠，购自北京维通利华实验动物技术有限公司，许可证 SCXK2002-0003，合格证号：No.1100112011013536，1100112011013537。

2 方法与结果

2.1 黄芩苷的含量测定

2.1.1 色谱条件

Agilent ECLipse SB-C₁₈ 色谱柱（4.6 mm × 250 mm，5 μm），以甲醇-水-磷酸（47 : 53 : 0.2）为流动相，流速 1.0 mL·min⁻¹，检测波长 280 nm，柱温 30 °C，进样量 10 μL。理论板数按黄芩苷峰计算应不低于 3000，分离度大于 1.5。

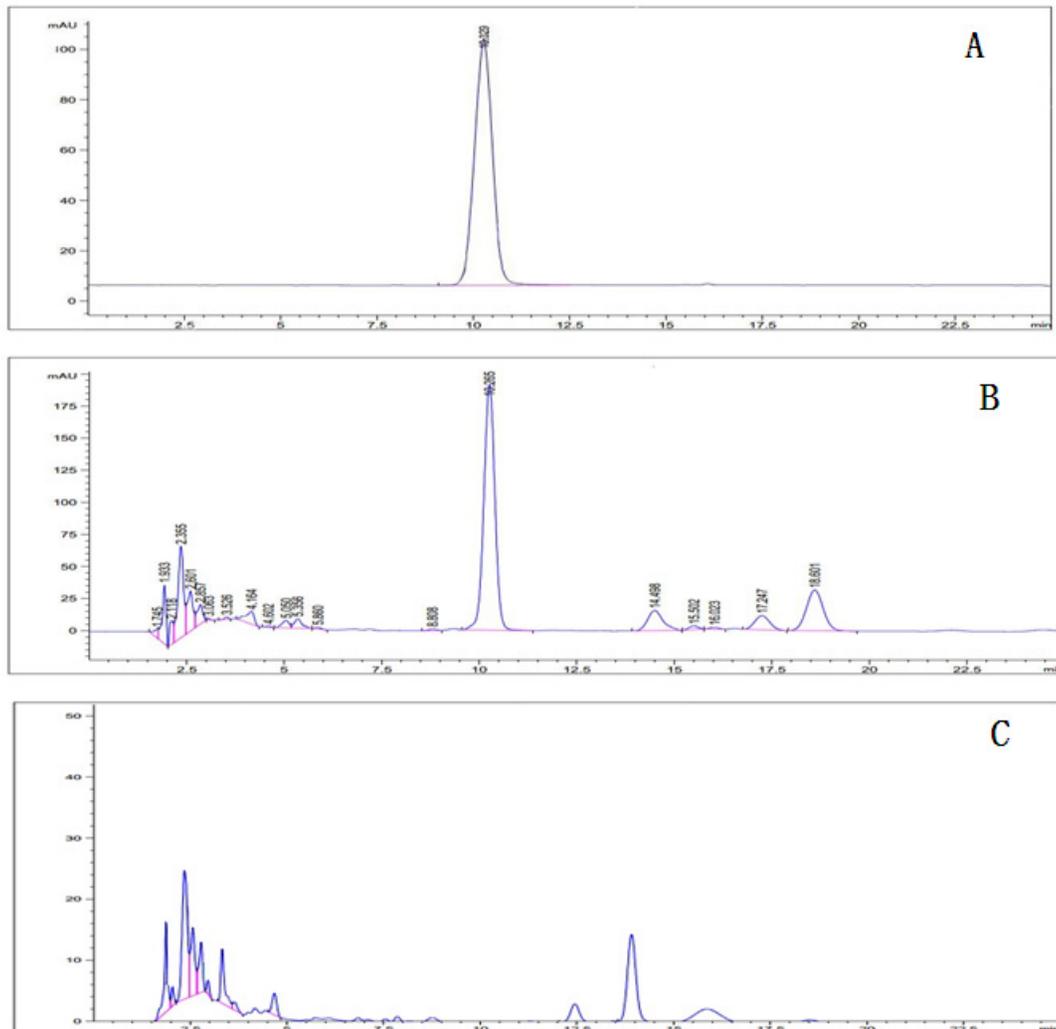
2.1.2 溶液的制备

精密称取黄芩苷对照品适量，加甲醇制成每 1 mL 含黄芩苷 1.009 mg 的对照品溶液。

取研细后的银丹解毒颗粒样品 0.25 g，精密称定，置锥形瓶中，加甲醇 25 mL，超声提取 30 min，放冷，补重，滤过，作为供试品溶液。依照供试品溶液制备方法配制黄芩苷阴性对照溶液。

2.1.3 专属性考察

取“2.1.2”节下对照品溶液、供试品溶液及阴性对照溶液各 10 μL，按“2.1.1”节下色谱条件，注入高效液相色谱仪，阴性对照溶液在黄芩苷对照品相应色谱峰位置上未出现干扰峰，且相邻峰分离度良好，结果见图 1。



A. 黄芩苷对照品；B. 供试品溶液；C. 黄芩苷阴性对照。

图 1 黄芩苷专属性高效液相色谱图

2.1.4 线性关系考察

取“2.1.2”节下对照品溶液，逐级稀释成浓度为807.2、645.76、403.6、322.88、161.44、80.72 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的黄芩苷对照品溶液，精密吸取10 μL 注入高效液相色谱仪，在“2.1.1”节色谱条件下测定。以峰面积为纵坐标（ Y ），质量浓度为横坐标（ X ， μg ）绘制标准曲线，得到回归方程： $Y = 2691.5 X + 90.329$ ， $R^2 = 0.9998$ ，结果表明，黄芩苷进样量在0.8072 ~ 10.09 μg 范围呈良好线性关系。

2.1.5 精密度试验

精密吸取对照品溶液10 μL 注入色谱仪，按“2.1.1”节下色谱条件连续进样6次，测定黄芩苷的峰面积，计算其RSD=0.33%（ $n=6$ ），表明该测定方法精密度良好。

2.1.6 稳定性试验

取供试品溶液，分别在0、2、4、8、12、24 h测定黄芩苷含量。结果表明，黄芩苷6次测定结果的RSD=0.98%（ $n=6$ ），表明样品溶液在24 h内稳定。

2.1.7 重复性试验

取同一批银丹解毒颗粒细粉0.25 g，精密称定，依“2.1.2”节下方法制备供试品溶液6份，记录得峰面积，计算黄芩苷含量。结果表明，样品中黄芩苷含量的平均值为13.79 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ，RSD=1.64%（ $n=6$ ），表明方法重复性良好。

2.1.8 加样回收试验

分别精密称取9份已知含量的样品0.1 g于容量瓶中，精密加入低、中、高3个水平的黄芩苷对照品溶液，每个水平制备3份。按“2.1.2”节下的方法制备供试溶液，进样测定，计算加样回收率。结果表明，黄芩苷的平均回收率为98.72%，RSD=1.98%，符合规定，结果见表1。

表1 加样回收率试验结果（ $n=9$ ）

编号	称样量 /g	原有含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	均值 /%	RSD /%
1	0.0981	1.3528	0.691	2.0153	95.88		
2	0.0988	1.3625	0.691	2.0364	97.53		
3	0.0991	1.3666	0.691	2.0434	97.95		
4	0.0992	1.3680	1.382	2.7010	96.46		
5	0.1015	1.3997	1.382	2.7762	99.60	98.72	1.98
6	0.1035	1.4273	1.382	2.8056	99.73		
7	0.0993	1.3693	2.073	3.4152	98.69		
8	0.1037	1.4300	2.073	3.5371	101.64		
9	0.1018	1.4038	2.073	3.4974	100.99		

2.1.9 样品含量测定

取5批（20200304、20200329、20200331、20200410、20200414）银丹解毒颗粒样品，按“2.1.2”节下方法制备供试品溶液。分别进样20 μL ，在“2.1.1”节色谱条件下测定（ $n=2$ ），结果5批样品的黄芩苷含量分别为13.74、14.31、13.24、14.15、13.41 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ，5批样品黄芩苷的平均含量为13.77 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

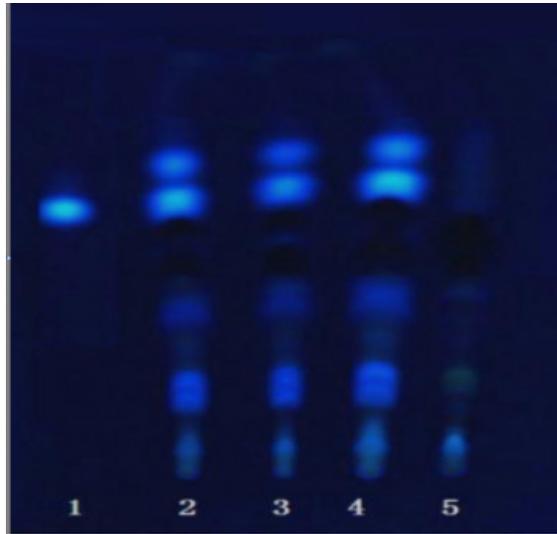
2.2 薄层色谱研究

2.2.1 金银花的薄层色谱鉴别

取银丹解毒颗粒10 g，研细，加甲醇20 mL，超声处理20 min，滤过，滤液作为供试品溶液。取绿原酸对照品适量，加甲醇制成每1 mL含1 mg的溶液，作为对照品溶液。另取缺金银花的阴性样品10 g，按供试品溶液制备方法制备阴性对照溶液。照薄层色谱法（《中国药典》2020年版通则

0502) 试验, 吸取上述供试品溶液、阴性对照溶液各 5 μL 和对照品溶液 2 μL , 分别点于同一聚酰胺薄膜上, 以醋酸溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾

干, 于紫外光灯 (365 nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点, 无阴性干扰。见图 2。



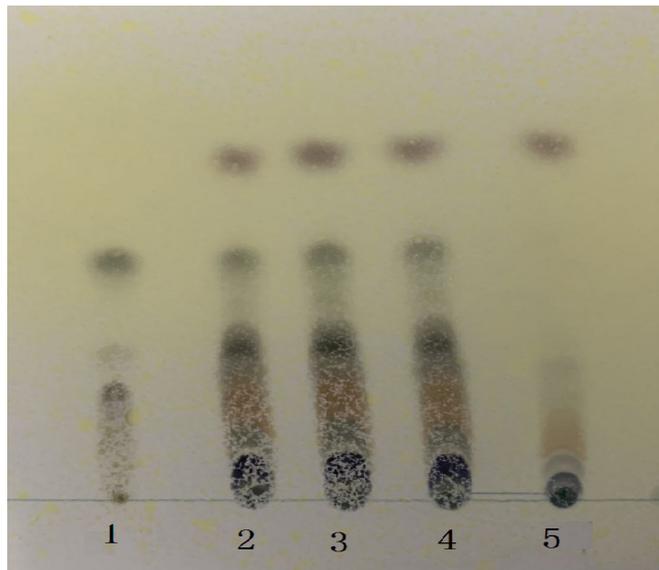
1. 绿原酸对照品; 2 ~ 4. 银丹解毒颗粒供试品; 5. 缺金银花的阴性对照。

图 2 金银花薄层色谱图

2.2.2 黄芩的薄层色谱鉴别

取银丹解毒颗粒 10 g, 加水 50 mL 使溶解, 加乙酸乙酯 30 mL 振摇提取, 分取乙酸乙酯层, 蒸干, 残渣加乙酸乙酯 1 mL 使其溶解, 作为供试品溶液。取黄芩对照药材 0.5 g, 加乙酸乙酯 20 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加乙酸乙酯 1 mL 使溶解, 作为对照药材溶液。另取缺黄芩的阴性样品 10 g, 按供试品溶液制备方法制备阴性

样品溶液。照薄层色谱法 (《中国药典》2020 年版通则 0502) 试验, 吸取上述供试品溶液、阴性对照溶液各 10 μL , 对照药材溶液 4 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-乙酸乙酯-甲醇-甲酸 (10 : 3 : 1 : 2) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷 5% 三氯化铁溶液。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 无阴性干扰。见图 3。



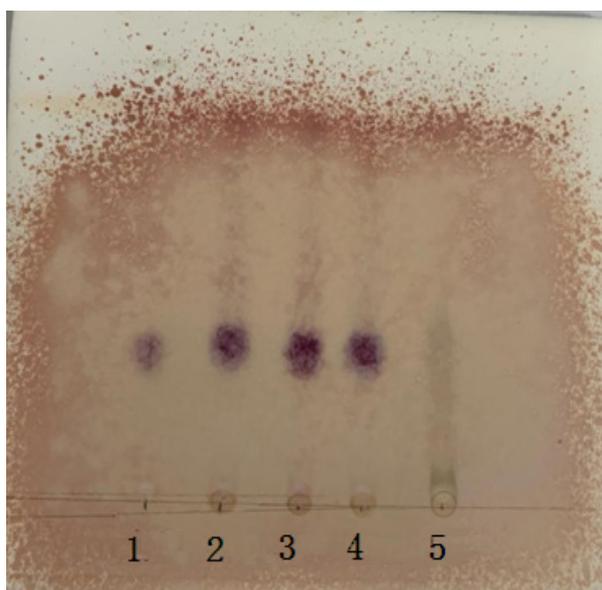
1. 黄芩对照药材; 2 ~ 4. 银丹解毒颗粒供试品; 5. 缺黄芩的阴性对照。

图 3 黄芩的薄层色谱图

2.2.3 麻黄的薄层色谱鉴别

取银丹解毒颗粒 10 g, 加水 50 mL 使溶解, 加浓氨试液 4 mL, 加乙醚振摇提取 2 次, 每次 20 mL, 合并乙醚液, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使其溶解, 作为供试品溶液。另取盐酸麻黄碱对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液, 作为对照品溶液。另取缺麻黄的阴性样品 10 g, 按供试品溶液制备方法制备阴性样品溶液。照薄层色谱法(《中国

药典》2020 年版通则 0502) 试验, 吸取对照品溶液 3 μ L, 供试品溶液、阴性对照溶液各 6 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以二氯甲烷-甲醇-浓氨试液(20 : 5 : 0.5) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷 5% 茛三酮乙醇溶液, 在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 且阴性无干扰。见图 4。



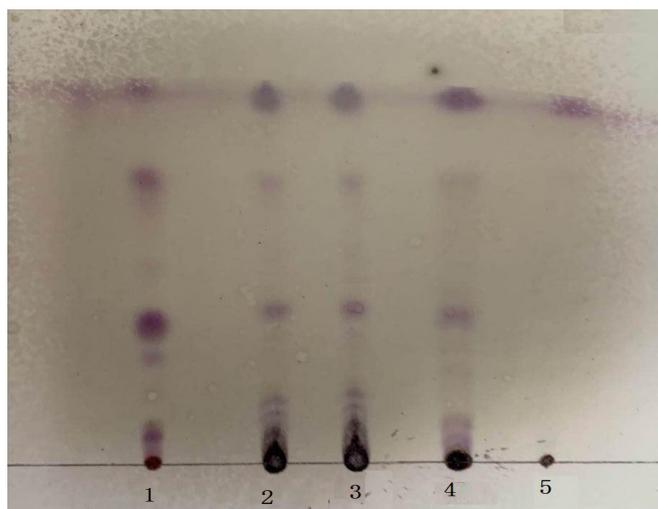
1. 盐酸麻黄碱对照品; 2 ~ 4. 银丹解毒颗粒供试品; 5. 缺麻黄的阴性对照。

图 4 麻黄薄层色谱图

2.2.4 桑白皮的薄层色谱鉴别

取银丹解毒颗粒 30 g, 研细, 加三氯甲烷 60 mL, 超声处理 1 h, 浸渍过夜, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加三氯甲烷 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取桑白皮对照药材 1 g, 加三氯甲烷 10 mL, 按供试品溶液制备方法制备对照药材溶液。另取缺桑白皮的阴性样品 30 g, 按供试品溶液制备方法制备阴性样品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》

2020 年版通则 0502) 试验, 吸取对照药材溶液 3 μ L, 供试品溶液、阴性对照溶液各 10 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚-甲苯-氯仿(2 : 1 : 2) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷 1% 香草醛硫酸溶液, 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 且无阴性干扰。见图 5。



1. 桑白皮对照药材; 2 ~ 4. 银丹解毒颗粒供试品; 5. 缺桑白皮的阴性对照。

图5 桑白皮薄层色谱图

2.3 急性毒性试验

2.3.1 饲养条件

北京市临床药理学研究所试验动物中心动物房, 屏障系统, 人工光照, 12 h明暗周期, 温度控制在20~26℃范围, 相对湿度控制范围为40%~70%, 换气次数15次·h⁻¹。动物饲养于聚碳酸酯大鼠饲养笼, 5只1笼, 每周2次更换清洁笼和垫料。

2.3.2 动物分组

大鼠禁食不禁水16 h, 按照体质量随机分为2组, 每组10只, 雌雄各半, 分别为银丹解毒颗粒组、阴性对照组。

2.3.3 给药方法

采用最大药液浓度(2.83 g生药·L⁻¹)经口灌胃给药, 根据大鼠灌胃最高给药体积约20 (mL·kg⁻¹)·次⁻¹, 1日内给药3次, 每次间隔4 h, 累计1日给药剂量为169.80 g·kg⁻¹。阴性对照组按照同样方法给予无菌饮用水。

2.3.4 观察指标及方法

给药后立即观察动物反应, 包括一般状况、行为、分泌物、排泄物、死亡情况及中毒反应, 详细记录每只大鼠反应情况及动物死亡只数, 连续观察14 d, 于给药0、4、7、10、13 d各组动物进行体质量和饲料称量。观察期结束后禁食不禁水16 h后进行剖检, 肉眼观察主要脏器、胸腔、腹腔等有无异

常变化。

2.3.5 伦理审查

本实验经北京市临床药理学研究所伦理委员会审查批准(编号药研20200007)。

2.3.6 统计方法

体质量按雌雄分别计算, 数据用($\bar{x} \pm s$)表示, 应用SPSS18.0统计软件, 采用 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2.3.7 结果

2.3.7.1 症状及死亡情况观察

银丹解毒颗粒组动物均存活至试验结束, 动物外观未见明显异常。第1 d第1次给药0.5 h后, 动物表现为自发活动减少然后俯卧; 第2次给药1 h后, 动物表现为俯卧, 全部出现稀便、尿液偏黄的情况。第2 d给药后, 动物出现黑褐色软便、尿液偏黄, 其余反应均恢复正常。给药第3 d, 粪便、尿液及其余反应均恢复正常。

2.3.7.2 对大鼠体质量的影响

各组动物体质量均增加, 与阴性对照组比较, 给药第4 d银丹解毒颗粒雄性动物体质量显著降低($P < 0.05$), 其他时间点无显著差异。结果表明, 连续给药14 d, 银丹解毒颗粒对大鼠体重增长无影响, 见表2。

表2 银丹解毒颗粒对大鼠体重的影响

性别	组别	剂量 / (g · kg ⁻¹)	n	体质量 ($\bar{x} \pm SD$) /g				
				0 d	4 d	7 d	10 d	13 d
雄	阴性对照组	-	10	160.1±4.6	204.4±8.7	243.2±15.9	278.8±15.3	306±16.6
	银丹解毒颗粒组	169.80	10	160.3±4.6	199.3±7.0*	239.6±13.1	266.96±10.6	295.8±12.0
雌	阴性对照组	-	10	156.9±5.7	183.2±8.0	202.6±10.6	213.2±10.8	221.9±11.0
	银丹解毒颗粒组	169.80	10	156.5±5.4	177.7±10.3	199.4±12.4	211.6±13.1	200.2±13.0

注：*表示与阴性对照组相比差异显著 ($P < 0.05$)。

2.3.7.3 对大鼠摄食量的影响

与阴性对照组比较, 差异无统计学意义。结果

表明, 给药后连续 14 d, 银丹解毒颗粒对大鼠进食量无明显影响, 详见表 3。

表3 银丹解毒颗粒对大鼠饲料摄食量的影响

性别	组别	剂量 / (g · kg ⁻¹)	n	摄食量 ($\bar{x} \pm SD$) /g			
				1 ~ 3 d	4 ~ 6 d	7 ~ 10 d	11 ~ 14 d
雄	阴性对照组	-	10	13.23±0.45	11.84±0.20	10.41±0.34	10.22±0.20
	银丹解毒颗粒组	169.80	10	12.58±0.70	11.01±0.24	10.92±0.21	10.57±0.35
雌	阴性对照组	-	10	11.26±0.55	10.23±0.18	10.12±0.13	9.88±0.26
	银丹解毒颗粒组	169.80	10	10.93±0.27	10.08±0.12	10.25±0.14	9.74±0.06

2.3.7.4 剖检

观察期结束后, 对大鼠进行剖检, 肉眼观察银丹解毒颗粒组与阴性对照组的心脏、肝脏、脾、肺、肾、胃肠、胸腔、腹腔, 均未见异常。

3 讨论

3.1 含量测定指标的选择

根据北京市药品监督管理局《北京市医疗机构应用传统工艺配制中药制剂备案管理实施细则》^[9]的规定, 含量测定应首选处方中君臣药、毒性药及贵重药。方中金银花为君药, 清热解毒、透邪外出; 黄芩为臣药, 清热燥湿、泻火解毒。绿原酸具有较好的抗氧化、抗炎和抗菌等生物活性, 是金银花发挥临床疗效的重要药效成分之一^[10]。黄芩苷具有抑菌抗炎、镇静、降压、抗变态反应等药理作用, 是黄芩主要药效成分之一^[11]。故本研究最初拟用 HPLC 法同时测定银丹解毒颗粒中绿原酸及黄芩苷的含量, 查阅多篇文献^[12-17], 尝试了多种流动相条件以及不同色谱柱, 在绿原酸的保留时间处仍有干扰峰。曾尝试用大孔吸附树脂绿原酸进行分离提

纯, 仍无法消除干扰。分析原因, 可能是因为银丹解毒颗粒中药味组成较多, 成分复杂, 采取煎煮法提取, 大量水溶性成分的溶出使得干扰较多, 较难去除。经预试, 发现黄芩苷的含量测定流动相简单, 样品分离度良好, 保留时间较短, 峰形理想, 故本研究最终选择黄芩苷作为银丹解毒颗粒的质量控制指标。通过对 5 批银丹解毒颗粒中有效成分的含量测定, 显示黄芩苷的平均含量为 13.77 mg · g⁻¹。考虑到不同产地、不同批次中药材的差异性以及生产过程中的波动性, 故拟定将黄芩苷的含量在平均值的基础上下调 20%, 拟定银丹解毒颗粒中黄芩苷的含量不得低于 11.02 mg · g⁻¹。

3.2 薄层鉴别展开剂的选择

在金银花的薄层鉴别预试验中, 曾参考《中国药典》2020 年版一部^[18], 以乙酸丁酯-甲酸-水 (7 : 2.5 : 2.5) 的上层溶液为展开剂, 结果发现该展开系统分离效果差, 存在拖尾现象。后经查阅文献, 选用醋酸为展开剂进行试验, 结果显示斑点清晰, 专属性强, 且阴性无干扰, 故纳入质量标准。

在黄芩的薄层鉴别预试验中,曾尝试选用黄芩苷标准品作为对照品,结果显示,与对照品色谱相应的位置上,主斑点不明显,且与其他斑点未分离,故最终选用黄芩对照药材作为对照。葶苈子以葶苈子对照药材进行薄层色谱鉴别,阴性对照有干扰,方法不可行,故未纳入质量标准。

3.3 急性毒性试验

本文参考《北京市医疗机构制剂急性毒性研究技术指导原则》^[19]进行急性毒性试验。灌胃给药刺激动物胃部及精神状态,引起的适应性反应^[20],故给药第 1 d,动物出现自发活动减少以及俯卧的现象,给药第 2 d 起,各组大鼠活动、精神状态均恢复正常。给药第 1 d 动物出现便秘、变软、尿黄等现象,推断其原因可能为银丹解毒颗粒处方中所含药物大部分为清热解毒类中药,药性寒凉,大剂量使用对胃肠有一定的损伤作用^[18],但是随着时间推移,动物耐受性增强,给药第 3 d 起,动物尿液、粪便均恢复正常。给药量为 $169.80 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,动物体质量及摄食量未出现趋势性的显著改变,提示银丹解毒颗粒对动物的体质量及摄食量无明显影响。观察期结束,各给药组心脏、肝脏、脾、肺、肾及胃肠等脏器均未见异常。大鼠灌胃给予银丹解毒颗粒的最大耐受剂量(Maximum Tolerable Dose, MTD)大于 $169.80 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,相当于临床拟用剂量 57.52 倍,试验结果显示银丹解毒颗粒的临床剂量安全可靠。银丹解毒颗粒的口服蓄积毒性及长期毒性还需进一步研究。

参考文献:

- [1] 邵仲柏,朱月霞,刘书豪,等.临床使用治疗新型冠状病毒肺炎中药复方中高频率中药抗病毒研究概述[J].中草药,2020,51(5):1153-1158.
- [2] 杨鸣,张颖,董斐,等.中医药参与新型冠状病毒肺炎治疗的临床研究策略与方法思考[J].中国中西医结合杂志,2020,40(3):283-286.
- [3] 郑文科,张俊华,杨丰文,等.中医药防治新型冠状病毒肺炎各地诊疗方案综合分析[J].中医杂志,2020,61(4):277-280.
- [4] 李斌,冯颖,刘遥,等.银丹解毒颗粒对新型冠状病毒肺炎患者消化道症状的影响[J].河北中医,2021,43

(6):926-929.

- [5] 刘敏,刘礼斌,田佳懿,等.新型冠状病毒疫情期间医院中药制剂的应急备案申请[J].中国药事,2020,34(9):1093-1098.
- [6] 段松冷,刘敏,刘礼斌,等.乳腺炎冲剂质量标准研究[J].中国医药导报,2019,16(36):111-114.
- [7] 张伟娜,赵颖,李铮.北京特色炮制饮片炒白扁豆仁质量标准研究[J].河南中医,2021,41(2):289-293.
- [8] 戴红,陈鹏.消糖片中葛根素质量检测方法的研究[J].中医药临床杂志,2011,23(1):61-62.
- [9] 北京市药品监督管理局.北京市食品药品监督管理局关于印发《北京市医疗机构应用传统工艺配制中药制剂备案管理实施细则(试行)》的公告[EB/OL].(2018-09-19)[2021-11-15].http://www.beijing.gov.cn/zhengce/zhengcefagui/201905/t20190522_61480.html.
- [10] 刘金磊,邓皮凯,邓仕英.金银花中绿原酸提取工艺研究[J].山东化工,2021,50(5):5-6.
- [11] 高鹏,马巧霞,朱金芳,等.黄芩中黄芩苷的提取工艺研究[J].实用药物与临床,2021,24(2):167-170.
- [12] 胡维稳.养血安胎丸制备工艺与质量标准研究[D].昆明:云南中医学院,2018:61-77.
- [13] 方既明,尹桃.强身颗粒质量标准的研究[J].湖南中医杂志,2011,27(4):117-118.
- [14] 林玉红,杨娟英,谢伟,等.益心解毒颗粒质量标准研究[J].陕西中医,2011,32(9):1235-1237.
- [15] 李波,王宇红,廖冰,等.逍遥胶囊的质量标准研究[J].世界中西医结合杂志,2012,7(6):477-481.
- [16] 吴晶,吕兴,卢建升,等.中药咽肺舒复方合剂的质量标准研究[J].大理大学学报,2019,4(12):52-57.
- [17] 李靖云,李瑞莲,文庆.小儿咽扁颗粒薄层色谱鉴别的优化研究[J].海峡药学,2021,33(1):63-66.
- [18] 李龙,马善波,王锦,等.金黄连口服液质量标准的提高[J].中国药师,2017,20(10):1876-1878.
- [19] 北京市食品药品监督管理局.北京市医疗机构制剂规程:第一册[M].北京:中国商业出版社,2014:207-210.
- [20] 廖建萍,欧阳荣,刘红宇,等.90种中药不良反应与其药性相互关系研究[J].中医药导报,2014,20(11):16-19.

(收稿日期 2021 年 11 月 17 日 编辑 郑丽娥)