

麻杏二陈汤煮散质量标准

刘倩, 陈金月, 文隽, 蓝传炎

(广西中医药大学第一附属医院, 南宁 530023)

[摘要] 目的:建立麻杏二陈汤煮散质量标准。方法:采用薄层色谱法(TLC)对煮散处方中的炙麻黄、苦杏仁、射干、陈皮进行定性鉴别,采用高效液相色谱法(HPLC)对煮散中的射干苷和橙皮苷含量进行同时测定。结果:TLC法能定性检出炙麻黄、苦杏仁、射干、陈皮,斑点清晰,且阴性对照无干扰。HPLC法测定射干苷在 $12.0 \sim 120.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 呈良好的线性关系($r = 0.9998$),平均回收率 100.00% (RSD 1.9%);橙皮苷在 $6.6 \sim 66.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 呈良好的线性关系($r = 0.9999$),平均回收率 98.16% (RSD 1.8%)。结论:该研究所建立的定性、定量检测方法操作简便,结果准确可靠,重复性好,能有效地控制麻杏二陈汤煮散的质量。

[关键词] 麻杏二陈汤煮散; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 射干苷; 橙皮苷

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)09-0071-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015090071

Quality Standard for Boiled Powder of Mxing Erchen Tang LIU Qian, CHEN Jin-yue, WEN Jun, LAN Chuan-yan (The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the quality standard for boiled powder of Mxing Erchen Tang. **Method:** The qualitative identifications of honey-fried Ephedrae Herba, Armeniacae Semen Amarum, Belamcandae Rhizoma and Citri Reticulatae Pericarpium were carried out by TLC, and the contents of belamcandin and hesperidin were determined by HPLC. **Result:** The results of TLC showed that the relevant spots were clear without interference in the blank reference. The liner ranges of belamcandin and hesperidin were $12.0\text{-}120.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ($r = 0.9998$) and $6.6\text{-}66.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ($r = 0.9999$), respectively. The average recovery of belamcandin was 100.00% with RSD of 1.9% . The average recovery of hesperidin was 98.16% with RSD of 1.8% . **Conclusion:** The established qualitative and quantitative methods are simple and accurate, reliable and reproducible, and can be effectively used for the quality control of boiled powder of Mxing Erchen Tang.

[Key words] boiled powder of Mxing Erchen Tang; TLC; HPLC; belamcandin; hesperidin

麻杏二陈汤处方是我院王力宁教授多年临床研究总结而得的验方,治疗小儿哮喘、慢性咳嗽、反复呼吸道感染等疾病疗效显著,由炙麻黄、苦杏仁、陈皮、射干等10味中草药组成。煮散^[1-2]用量较饮片少,节约中药资源,减少患者用药费用和煎药时间,其优势还在于可随证加减,符合中医辨证论治的原则而深受医生和患者欢迎。前期研究已将麻杏二陈汤制备成煮散剂,但该制剂尚未有质量控制标准,课题组在参考了《中国药典》及有关文献的基础上^[3-7],建立了处方中君药炙麻黄、苦杏仁、射干、陈

皮的薄层色谱鉴别法,HPLC同时测定制剂中的有效成分射干苷和橙皮苷含量的方法,为麻杏二陈汤煮散的质量标准制定提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器 YOKO-CS型薄层色谱反射透射成像仪(武汉药科新技术开发有限公司),LC-20AT型高效液相色谱仪(包括SPD-20A紫外检测器,LC色谱工作站,日本岛津),GH-252型电子分析天平(日本AND)。

1.2 试药 药材均由柳州市神农中药饮片厂提供,

[收稿日期] 20140123(010)

[基金项目] 广西壮族自治区卫生厅科研课题(Z2012162)

[第一作者] 刘倩,硕士,主管药师,从事医院药学和临床药学研究,Tel:0771-5840015,E-mail:lq200431@163.com

经广西中医药大学第一附属医院黄权芳副主任中药师鉴定,符合2010年版《中国药典》规定。盐酸麻黄碱(批号171241-201007),苦杏仁苷(批号110820-200403),射干苷(批号111632-200602)对照品均购自中国食品药品检定研究院。橙皮苷对照品购自美国Acros Organics(批号A0285762,纯度97%)。麻杏二陈汤煮散(广西中医药大学第一附属医院制剂室提供,批号20130802,20130806,20130809),炙麻黄的阴性样品、缺苦杏仁的阴性样品、缺射干的阴性样品、缺陈皮的阴性样品(广西中医药大学第一附属医院制剂室提供),乙睛(批号70109),甲醇(批号70112)均为色谱纯,美国Dikama公司提供;水为超纯水,其他试剂为市售分析纯,硅胶板(青岛海洋化工厂分厂)。

1.3 煮散的制备 按处方剂量称取10剂中药饮片量,50℃干燥3h,粉碎后过24目筛,充分搅拌均匀,制得麻杏二陈汤煮散,备用。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

2.1.1 炙麻黄的鉴别 称取麻杏二陈汤煮散4g,滴加浓氨试液1mL,加三氯甲烷50mL加热回流1h,滤过,滤液在水浴60℃条件下蒸干,残渣加甲醇2mL充分振摇,滤过,滤液作为供试品溶液;同法制备缺炙麻黄的阴性对照溶液。取炙麻黄药材2g,同法制备对照药材溶液;取盐酸麻黄碱对照品1mg,加甲醇1mL,充分溶解,作为对照品溶液。分别吸取上述4种溶液各5μL,点于同一硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-浓氨试液(20:5:0.5)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以0.2%的茚三酮试液,在105℃加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,与对照药材、对照品色谱相应的位置上,显相同红色的斑点,而阴性无此斑点。

2.1.2 苦杏仁的鉴别 称取麻杏二陈汤煮散4g,置索氏提取器中,加二氯甲烷160mL,加热回流2h,弃去二氯甲烷液,药渣挥干,加甲醇30mL,加热回流30min,放冷,滤过,滤液作为供试品溶液;同法制备缺苦杏仁的阴性对照溶液。取苦杏仁药材2g,同法制备对照药材溶液;取苦杏仁苷对照品2mg,加甲醇1mL,充分溶解,作为对照品溶液。吸取上述4种溶液各3μL,点于同一硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水(15:40:22:10)5~10℃放置12h的下层溶液为展开剂,展开,取出,立即用0.8%磷钼酸的15%硫酸乙醇溶液浸板,在105℃加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在

与对照药材、对照品色谱相应的位置上,显示相同浅绿色的斑点,而阴性无此斑点。

2.1.3 射干的鉴别 称取煮散2g,加甲醇20mL,超声处理30min,滤过,滤液浓缩至2mL作为供试品溶液;同法制备缺射干的阴性对照溶液。取射干药材2g,同法制备对照药材溶液。分别吸取上述3种溶液各2μL,分别点于同一聚酰胺薄膜上,以三氯甲烷-丁酮-甲醇(3:1:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以1%的三氯化铝试液,置紫外光灯(365nm)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,而阴性无此斑点。

2.1.4 陈皮的鉴别 称取煮散4g,加甲醇30mL,超声处理30min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇2mL作为供试品溶液;同法制备缺陈皮的阴性对照溶液。取陈皮药材2g,同法制备对照药材溶液;取橙皮苷对照品,加甲醇制成饱和溶液,作为对照品溶液。分别吸取上述4种溶液各2μL,点于同一用0.5%氢氧化钠溶液制备的硅胶G薄层板上,以乙酸乙酯-甲醇-水(100:17:13)为展开剂,展开约3cm,取出,晾干,以甲苯-乙酸乙酯-甲酸-水(20:10:1:1)的上层溶液为展开剂,展至约8cm,取出,晾干,喷以1%的三氯化铝试液,置紫外光灯(365nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材、对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,而阴性无此斑点。

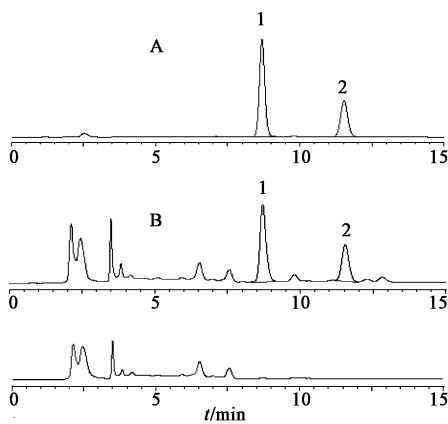
2.2 含量测定^[3-7]

2.2.1 色谱条件 Diamonsil C₁₈色谱柱(4.6mm×250mm,5μm),流动相乙腈-水(21:79),流速1mL·min⁻¹,柱温25℃,检测波长283nm,进样量20μL。理论塔板数按射干苷和橙皮苷峰计算均不低于8000。见图1。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取射干苷对照品0.01g,置25mL量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得0.400g·L⁻¹射干苷对照品储备液;精密称取橙皮苷对照品0.011g,置50mL量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得0.220g·L⁻¹橙皮苷对照品储备液。精密量取射干苷、橙皮苷对照品储备溶液适量,混合后加入甲醇稀释,即得浓度分别为60.0,33.0mg·L⁻¹。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密称定煮散粉末0.8g,置25mL量瓶中,加甲醇20mL,超声处理30min,放冷,加甲醇定容至刻度,摇匀,离心(4000r·min⁻¹)10min,取出,吸取上清液,经0.45μm微孔滤膜过滤,取续滤液,即得。

2.2.4 阴性对照溶液的制备 按处方制备缺射干



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 射干苷; 2. 橙皮苷

图1 麻杏二陈汤煮散 HPLC 色谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of Moxing Erchen Tang made from powder

苷和橙皮苷的麻杏二陈汤煮散阴性样品,按 2.2.3 项下方法制备,即得。

2.2.5 线性关系 分别精密吸取射干苷和橙皮苷对照品储备液适量,置于同一量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,制成含射干苷 12.0, 24.0, 40.0, 60.0, 80.0, 120.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和橙皮苷 6.6, 13.2, 22.0, 33.0, 44.0, 66.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的系列对照品溶液,以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,绘制标准曲线,计算回归方程 $Y_{\text{射干苷}} = 35\,978X - 19\,972$, ($r = 0.999\,8$), 线性范围 12.0 ~ 120.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; $Y_{\text{橙皮苷}} = 30\,908X - 7\,276$ ($r = 0.999\,9$), 线性范围 6.6 ~ 66.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.2.6 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液 20 μL ,连续进样 6 次测定,射干苷、橙皮苷峰面积的 RSD 均为 1.1%,表明仪器精密度良好。

2.2.7 稳定性试验 精密吸取供试品溶液 20 μL ,分别于制备 0, 1, 2, 4, 6, 8 h 按色谱条件进样测定,结果射干苷分别为峰面积 RSD 均为 2.4%,表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.2.8 重复性试验 精密吸取同一煮散样品,按 2.2.3 项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按色谱条件进样测定,射干苷的峰面积 RSD 1.7%,橙皮苷的峰面积 RSD 1.8%,结果表明方法的重复性良好。

2.2.9 加样回收率试验 取已知含量的麻杏二陈汤煮散样品 9 份,每份 5 mL,置 10 mL 量瓶中,分别精密加入低、中、高浓度的射干苷和橙皮苷对照品溶液各 3 份,按 2.2.3 项下方法处理,测定峰面积,计算回收率,结果回收率分别为 100.0%, 98.2%, RSD 分别为 1.9%, 1.8%。

2.2.10 样品含量测定 测定 3 个批次的麻杏二陈

汤煮散样品。精密吸取按 2.2.3 项下供试品溶液 20 μL 进样,测定峰面积,计算煮散中射干苷的质量分数分别为 24.35, 24.85, 25.07 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,橙皮苷的质量分数分别为 15.28, 14.91, 15.35 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

3 讨论

取一定浓度的对照品溶液,于 190 ~ 500 nm 下扫描,结果显示射干苷在 266 nm 处有最大吸收,橙皮苷在 283 nm 处有最大吸收,考虑到本品中射干苷的含量较高,而橙皮苷的含量较低,因此兼顾灵敏度 and 含量的要求选择 283 nm 作为检测波长,而且能够满足含量测定的要求。

本研究先后考察了甲醇-乙酸水溶液^[3]、乙腈-磷酸水溶液^[4-5]、乙腈-水^[6]等流动相系统,发现以乙腈-水作为流动相系统较稳定,且可以得到理想的柱压与柱效,能满足同时测定供试品中射干苷和橙皮苷含量的要求,并可排除杂质干扰,峰形较好,二者分离度良好。

射干苷和橙皮苷的提取方法,文献报道多采用甲醇超声提取法^[7-8]。本文主要对甲醇的用量和提取时间进行了考察,结果显示,采用 25 mL 的甲醇超声提取 30 min,供试品中的射干苷和橙皮苷可提取完全,且无杂质的干扰,在同一色谱条件下同时测定两者的含量,操作简便,准确度高,能满足两者的定量要求,该法可用于麻杏二陈汤煮散的质量控制。

[参考文献]

- [1] 全小林,张家成,穆兰澄,等.恢复煮散节省药材[J].中国新药杂志,2012,21(5):470-474.
- [2] 陈金朋,王力宁,刘倩,等.麻杏二陈煮散汤剂质量优化影响因素的正交试验研究[J].中国药师,2013,16(3):342-345.
- [3] 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,2010:176-177,181-188,267-268,300-301.
- [4] 江晓,翁立冬,李沙沙,等.稚儿灵颗粒的质量标准研究[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(7):130-132.
- [5] 郭志辉.HPLC 法测定射干配方颗粒中射干苷的含量[J].药物分析杂志,2009,29(8):1375-1377.
- [6] 曹岳华,彭国庆.高效液相色谱法测定射干利咽口服液中的射干苷、次野鸢尾黄素的含量[J].中南药学,2010,8(6):431-434.
- [7] 赵晓红,杨莹,申睿,等.HPLC 测定复方豆蔻合剂中橙皮苷含量[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(11):61-63.

[责任编辑 顾雪竹]