

平哮颗粒质量标准

张潮¹, 史锁芳^{2*}, 潘金火¹

(1. 南京中医药大学药学院, 南京 210046; 2. 江苏省中医院, 南京 210029)

〔摘要〕 目的:建立平哮颗粒的质量标准。方法:采用 TLC 对平哮颗粒中麻黄、白芍、蛇床子进行定性鉴别;采用 HPLC 测定盐酸麻黄碱含量,色谱条件为 Heder ODS2 色谱柱(4.6 mm×200 mm,5 μm),流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液(3:97),流速 1.0 mL·min⁻¹,检测波长 207 nm,柱温 30 ℃。结果:平哮颗粒中麻黄、白芍、蛇床子的薄层色谱斑点清晰,盐酸麻黄碱线性范围 0.069 6~0.417 6 μg($r=0.999\ 0$),加样回收率 99.35% (RSD 1.84%),3 批样品中盐酸麻黄碱质量分数分别为 0.202 2, 0.209, 0.207 2 mg·g⁻¹,暂拟定本品每 1 g 含盐酸麻黄碱不得少于 0.17 mg。结论:建立的方法操作简便、专属性强、灵敏度高、重复性好,可作为该颗粒的质量控制标准。

〔关键词〕 平哮颗粒; 盐酸麻黄碱; 质量标准; 高效液相色谱法; 薄层色谱鉴别
〔中图分类号〕 R284.1 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2013)20-0039-04
〔doi〕 10.11653/syfy2013200039

Quality Standards of Pingxiao Granules

ZHANG Chao¹, SHI Suo-fang^{2*}, PAN Jin-huo¹

(1. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China;
2. Jiangsu Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

〔Abstract〕 **Objective:** To establish quality standardS of Pingxiao granules. **Method:** Ephedrae Herba, Paeoniae Radix Alba and Cnidii Fructus in Pingxiao granules were identified by TLC; The content of ephedrine hydrochlorid was determined by RP-HPLC, chromatographic conditions were as follows: Heder ODS2 column (4.6 mm×200 mm, 5 μm), mobile phase of acetonitrile-0.1% phosphoric acid (3:97), flow rate of 1.0 mL·min⁻¹, detection wavelength 207 nm, column temperature at 30 ℃. **Result:** Spots of Ephedrae Herba, Paeoniae Radix Alba and Cnidii Fructus in Pingxiao granules on TLC could be well separated. Ephedrine hydrochlorid showed a good linear relationship at the range of 0.069 6-0.417 6 μg ($r=0.999\ 0$), the average recovery was 99.35% with RSD 1.84%, the contents of ephedrine hydrochlorid in three batches of Pingxiao granules were 0.202 2, 0.209, 0.207 2 mg·g⁻¹, respectively; Temporarily intended the content of ephedrine hydrochlorid should more than 0.17 mg per 1 g of this product. **Conclusion:** This established method was simple, specific, sensitive and reproducible, it was suitable for quality control of Pingxiao granules.

〔Key words〕 Pingxiao granules; ephedrine hydrochlorid; quality standards; HPLC; TLC

平哮颗粒处方来源于江苏省中医院治疗哮喘的临床经验方,由麻黄、白芍、蛇床子等 11 味中药材组

成,具有宣肺通阳、祛风豁痰、止痉平喘的功效,用于治疗风痰阻肺引起的哮喘,症见胸闷、气喘、喉间鸣响、咯痰白黏等。为保证该制剂的质量稳定,确保临床安全有效性,本实验拟建立麻黄、白芍、蛇床子的 TLC 鉴别,采用 RP-HPLC 测定麻黄中主要有效成分盐酸麻黄碱的含量^[1],为该制剂的质量控制提供科学依据。

1 材料

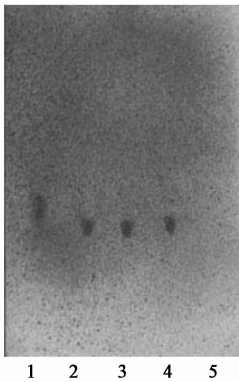
2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),

〔收稿日期〕 20130327(016)
〔基金项目〕 江苏省康缘基金项目(HZ1011KY)
〔第一作者〕 张潮,在读硕士,从事药剂学研究, Tel: 18795866050, E-mail: zc19860707@163.com
〔通讯作者〕 * 史锁芳,博士生导师,从事呼吸系统疾病研究, Tel:13912997691, E-mail: jsssf2006@126.com

AG135 型电子天平(瑞士梅特勒),FA1104N 型电子分析天平(上海精密科学仪器有限公司)。盐酸麻黄碱对照品(中国食品药品检定研究院,批号 0736-200219),硅胶 G(青岛海洋化工厂),平哮颗粒(张家港中医院制剂科,批号 20120912,20120916,20120919),麻黄、白芍及蛇床子药材(均购自安徽国鑫中药饮片有限公司,经南京中医药大学陈建伟教授鉴定,均符合 2010 年版《中国药典》一部相关项下规定),甲醇、乙腈为色谱纯,水为双蒸水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 麻黄薄层色谱鉴别^[2-4] 称取本品 5 g,研细,加热水 30 mL 使溶解,放冷,加浓氨试液 30 mL,摇匀,加乙醚 60 mL 振摇提取,分取乙醚液,挥干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取盐酸麻黄碱对照品,加甲醇制成 1 g·L⁻¹的对照品溶液。称取按处方比例混合的除麻黄外的 10 味药的细粉 5 g,按供试品溶液的制备方法制备,作为阴性对照液。吸取上述 3 种溶液各 10 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-浓氨水(30:6:0.6)于<10℃放置的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 0.5% 茚三酮乙醇溶液,105℃加热至斑点显色清晰,见图 1。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。

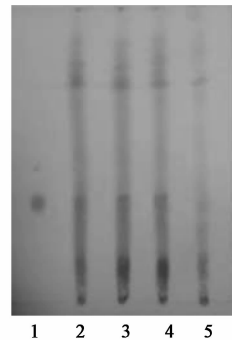


1. 盐酸麻黄碱对照品;2~4. 供试品;5. 缺麻黄阴性样品

图 1 平哮颗粒中麻黄的 TLC

2.2 白芍薄层色谱鉴别^[5] 取本品 10 g,研细,加热水 30 mL 使溶解,放冷,加乙醚振摇提取 4 次,每次 30 mL,弃去乙醚液,水液用正丁醇振摇提取 2 次,每次 20 mL,合并正丁醇液,加水 20 mL 洗涤,弃去水液,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶液,作为供试品溶液。另取芍药苷对照品,加甲醇制成 2 g·L⁻¹的对照品溶液。按处方比例称取混合的除白芍外 10 味药细粉 10 g,按供试品溶液的制备方法

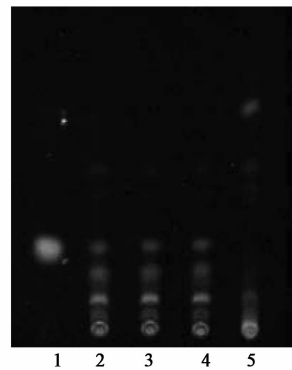
制备,作为阴性对照液。吸取上述 3 种溶液各 10 μL,分别点于同一羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-浓氨试液(8:1:4:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 香草醛硫酸溶液,加热至斑点显色清晰,见图 2。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点。



1. 芍药苷对照品;2~4. 样品;5. 缺白芍阴性样品

图 2 平哮颗粒中白芍的 TLC

2.3 蛇床子薄层色谱鉴别^[6-7] 取本品 10 g,研细,加乙醇 50 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 30 mL 使溶解,用乙醚振摇提取 2 次,每次 20 mL,合并乙醚提取液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取蛇床子素对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 2 mg 的溶液,作为对照品溶液。按处方比例称取混合的除蛇床子外的 10 味药的细粉 10 g,研细,其余按上述供试品溶液的制备方法制备,作为阴性对照液。吸取上述 3 种溶液各 10 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯(17:3)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外灯(365 nm)下检视,见图 3。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。



1. 蛇床子素对照品;2~4. 样品;5. 缺蛇床子阴性样品

图 3 平哮颗粒中蛇床子的 TLC

2.4 供试液的制备方法考察

2.4.1 中性氧化铝用量的考察 取本品细粉约

2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,称定质量,超声处理 15 min,放冷,称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 1 mL,置于不同中性氧化铝柱(100 ~ 200 目,内径 1 cm)上,氧化铝用量分别为 1.5,3 g($n=2$),用 50% 甲醇洗脱,收集洗脱液约 9 mL,置 10 mL 量瓶中,加 1 滴磷酸,用 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,结果麻黄碱质量分数分别为 0.203 7,0.200 2 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,故确定氧化铝用量 1.5 g。

2.4.2 提取时间考察 取本品细粉约 2 g,按 2.2.2 项下方法进行试验,比较超声时间(15,30,45 min)对麻黄碱质量分数的影响,结果分别为 0.204 4,0.203 6,0.201 8 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,故确定超声时间 15 min。

2.4.3 洗脱剂收集量的考察 取本品细粉约 2 g,按 2.2.2 项下方法进行试验,比较洗脱剂收集量(9,25 mL)对麻黄碱质量分数的影响,结果分别为 0.204 5,0.208 9 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,故选择洗脱剂收集量 9 mL。

2.5 盐酸麻黄碱的含量测定^[8]

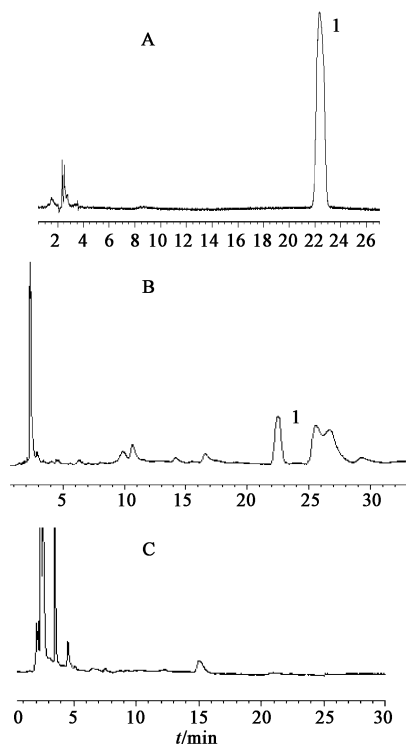
2.5.1 色谱条件 Hedera ODS2 色谱柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μm),流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液(3:97),流速 1.0 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$,检测波长 207 nm,柱温 30 $^{\circ}\text{C}$,见图 4。

2.5.2 对照品溶液的制备 精密称得盐酸麻黄碱对照品 3.480 mg,加甲醇溶解并定容至 10 mL,即得。

2.5.3 供试品溶液的制备 取本品细粉约 2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,称定质量,超声处理 15 min,放冷,称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过。精密量取续滤液 1 mL,置于不同中性氧化铝柱(100 ~ 200 目,内径 1 cm,1.5 g)上,用 50% 甲醇洗脱,收集洗脱液约 9 mL,置 10 mL 量瓶中,加 1 滴磷酸,用 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.5.4 线性范围的考察 精密量取上述对照品溶液 0.2,0.4,0.6,0.8,1.0,1.2 mL 分别置于 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,按上述色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,得回归方程 $Y=2 \times 10^6 X + 23\ 780$ ($r=0.999\ 0$),表明盐酸麻黄碱进样量在 0.069 6 ~ 0.417 6 μg 与峰面积呈良好线性关系。

2.5.5 精密度试验 精密吸取对照品溶液 10 μL ,重复进样 6 次,测得峰面积,计算盐酸麻黄碱含量的



A. 对照品;B. 供试品;C. 阴性对照;1. 盐酸麻黄碱

图 4 平哮颗粒中麻黄碱的 HPLC

RSD 0.51%,表明仪器精密度良好。

2.5.6 重复性试验 取样品 6 份,分别按 2.5.3 项下方法制备供试品溶液,计算盐酸麻黄碱平均质量分数 0.206 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,RSD 0.82%。

2.5.7 稳定性试验 取供试品溶液,分别于 0,2,4,6,8,10 h 进样测定,结果峰面积的 RSD 0.58%,表明供试品溶液在 10 h 内稳定。

2.5.8 回收率试验 取已知含量的供试品约 0.8 g,精密称定,置 50 mL 量瓶中,每一样品中准确加入相同量的盐酸麻黄碱对照品,按 2.5.3 项下方法制备供试品溶液,按上述色谱条件进样分析,记录峰面积,结果盐酸麻黄碱的平均加样回收率 99.35%,RSD 1.84%。

2.5.9 样品测定 取平哮颗粒约 2 g,精密称定,按 2.5.3 项下方法制备供试品溶液,注入液相色谱仪,按外标法计算 3 批样品中盐酸麻黄碱质量分数分别为 0.202 2,0.209,0.207 2 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,可暂拟定本品每 1 g 含盐酸麻黄碱不得少于 0.17 mg。

3 讨论

麻黄的定性鉴别曾参考《中国药典》2005 年版“麻黄”药材的方法,以三氯甲烷-甲醇-氨水(20:5:0.5)为展开剂,结果供试品溶液斑点重叠比较严重,分离度差,且阴性对照有干扰;改用三氯甲烷-甲醇-氨水(30:6:0.6)后,发现薄层色谱图中盐酸麻

HPLC 同时测定了哥王中 4 种香豆素的含量

卢雪飞^{1,2}, 邓振雪¹, 魏岚¹, 佟立今¹, 孙立新^{1*}

(1. 沈阳药科大学药学院, 沈阳 110016; 2. 沈阳药科大学中药学院, 沈阳 110016)

[摘要] 目的:建立 HPLC 同时测定了哥王中伞形花内酯、西瑞香素-7-*O*- β -D-葡萄糖苷、triumbelletin、西瑞香素含量的方法。方法:采用依利特 Hypersil-ODS 色谱柱(4.6 mm $\times$ 200 mm, 5 μ m),流动相乙腈-0.1% 磷酸水溶液梯度洗脱,检测波长 345 nm,流速 1.0 mL $\cdot$ min⁻¹,柱温 30 $^{\circ}$ C,进样量 20 μ L。比较 9 个产地了哥王中 4 种香豆素含量的差异。结果:伞形花内酯、西瑞香素-7-*O*- β -D-葡萄糖苷、triumbelletin、西瑞香素线性范围分别为 0.070 ~ 0.770 ($r=0.999\ 9$),0.190 ~ 2.09 ($r=0.999\ 9$),0.765 ~ 8.42 ($r=0.999\ 8$),4.08 ~ 44.9 mg $\cdot$ L⁻¹ ($r=0.999\ 9$),平均回收率分别为 98.0% (RSD 1.9%),96.6% (RSD 1.2%),96.5% (RSD 1.7%),101.3% (RSD 1.1%)。不同产地了哥王中 triumbelletin 和西瑞香素含量明显高于伞型花内酯和西瑞香素-7-*O*- β -D-葡萄糖苷,伞形花内酯和西瑞香素含量差异较小,西瑞香素-7-*O*- β -D-葡萄糖苷和 triumbelletin 含量差异较大,其中云南产地 2 的西瑞香素-7-*O*- β -D-葡萄糖苷含量最高,四川产地的含量最低;江西产地的 triumbelletin 含量最高,云南产地 1、广西产地 3 和贵州产地均未测到 triumbelletin。结论:该方法简便、快速、准确,可作为了哥王药材的质量控制方法。

[关键词] 了哥王; 高效液相色谱; 伞形花内酯; 西瑞香素-7-*O*- β -D-葡萄糖苷; triumbelletin; 西瑞香素; 含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)20-0042-04

[doi] 10.11653/syjf2013200042

Simultaneous Determination of Four Coumarins
in *Wikstroemia indica* by HPLC

LU Xue-fei^{1,2}, DENG Zhen-xue¹, WEI Lan¹, TONG Li-jin¹, SUN Li-xin^{1*}

[收稿日期] 20130324(005)

[基金项目] 辽宁省科技厅项目(2011412004);辽宁省高校创新团队支持计划项目(LT 2012018)

[第一作者] 卢雪飞,在读硕士,从事中药质量控制研究,Tel:18040014983,E-mail:zylxf2010@163.com

[通讯作者] *孙立新,教授,博士,博士生导师,从事药物分析研究,Tel:024-23986365,E-mail:slx04@163.com

黄碱斑点清晰,无干扰。白芍的定性鉴别虽然斑点大体分开,但还有待进一步改善。麻黄为该制剂的君药之一,因而选择盐酸麻黄碱含量作为该制剂的定量指标。通过对提取溶剂、提取时间、溶剂收集量的考察,同时结合专属性验证,最后建立了盐酸麻黄碱的定量方法,并规定其最低含量限度。

[参考文献]

[1] 姚琳,邓康颖,罗佳波. 麻黄总生物碱与麻黄碱镇咳平喘作用比较研究[J]. 中药药理与临床,2008,24(2):18.

[2] 虞金宝,宋友昕,陆萍,等. 洗尔冻洗液薄层鉴别方法的研究[J]. 中国新药杂志,2001,10(9):680.

[3] 谢卫锋,高玉珍,陈莉琳. 感冒滴丸质量标准研究

[J]. 中成药,2008,30(8):1171.

[4] 王宝琴,苏健,韩敏彩,等. 麻黄及其制剂中麻黄类生物碱的含量测定方法研究进展[J]. 中国中医药信息杂志,2004,11(3):274.

[5] 陈玉祥. 育英颗粒剂的质量标准研究[J]. 中草药,2001,32(3):208.

[6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:化学工业出版社,2005:553.

[7] 洪巧瑜. 双龙颗粒药学研究和平喘作用研究[D]. 北京:北京中医药大学,2007.

[8] 郭东艳,史亚军,宋道. HPLC 测定复方麻黄止咳颗粒中盐酸麻黄碱的含量[J]. 陕西中医,2005,26(4):373.

[责任编辑 全燕]