

# 宣肺祛风合剂的质量标准研究

凌晓颖,周琴妹,刘顺,管敏,邹凯平,陈晓斌

(南京中医药大学附属医院,江苏南京 210036)

**摘要:目的** 制定宣肺祛风合剂的质量标准。**方法** 采用薄层色谱法(TLC)对方剂中的前胡、钩藤进行鉴别;采用高效液相色谱法(HPLC)测定方中麻黄碱类成分含量,Supelco ODS C<sub>18</sub>柱(250 mm×4.6 mm,5 μm),流动相:乙腈-0.2%磷酸水溶液(3:97);检测波长:210 nm。柱温:30℃;流速:1.0 mg·L<sup>-1</sup>。**结果** 前胡、钩藤 TLC 鉴别斑点清晰,阴性无干扰,可作为定性鉴别;HPLC 测定盐酸麻黄碱在 0.843 75~54.00 mg·L<sup>-1</sup>范围内,与峰面积积性关系良好,回归方程为  $Y = 19.48X + 12.554$ ,  $r^2 = 0.999 9$ ,平均回收率为 98.2%,RSD = 2.4% ( $n = 5$ );盐酸伪麻黄碱在 0.781 25~50.00 mg·L<sup>-1</sup>范围内,与峰面积的积分值呈良好的线性关系,回归方程  $Y = 19.816X + 12.468$  ( $r^2 = 0.999 9$ ),平均回收率均为 97.9%,RSD = 1.7% ( $n = 5$ )。**结论** TLC 鉴别方法操作简单,专属性强;HPLC 含量测定方法准确、重现性良好,可作为该制剂的质量控制方法。

**关键词:** 色谱法,高压液相;麻黄碱;伪麻黄碱;前胡;钩藤;中药理化鉴定

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2017.03.014

## Study on the quality standards of Xuanfei Qufeng Heji

LING Xiaoying, ZHOU Qinmei, LIU Shun, GUAN Min, ZOU Kaipin, CHEN Xiaobin

(Affiliated Hospital of Nanjing University of TCM, Nanjing, Jiangsu 210036, China)

**Abstract: Objective** To establish the quality standard of xuanfei qufeng heji. **Methods** Peucedanum praeruptorum Dunn and Ramulus Uncariae Cum Uncis were identified by TLC. The contents of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride were examined by HPLC. The optimal conditions of the separation and detection were achieved on a supelco ODS C<sub>18</sub> column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) with a mobile phase consisting of metha acetonitrile-0.2% phosphoric acid solution (3:97) at the detective wavelength of 210 nm. The column temperature was 30℃ and the flow rate was 1 mL·min<sup>-1</sup>. **Results** TLC spots of Peucedanum praeruptorum Dunn. and Ramulus Uncariae Cum Uncis were clear and negative without interference, which can be used as qualitative method. The contents of ephedrine hydrochloride had a good linear relation with ( $r^2 = 0.999 9$ ), when ranging from 0.843 7~54.00 mg·L<sup>-1</sup> and equation was  $Y = 19.816X + 2.554$ , The average recovery of ephedrine hydrochloride was 98.2% and RSD was 2.4% ( $n = 5$ ). The contents of pseudoephedrine hydrochloride had a good linear relation with ( $r^2 = 0.999 9$ ) when ranging from 0.781 25~50.00 mg·L<sup>-1</sup> and equation was  $Y = 19.816X + 12.468$ , The average recovery of pseudoephedrine hydrochloride was 97.9% and RSD was 1.7% ( $n = 5$ ). **Conclusions** The TLC method is simple and has good specificity. The HPLC method is acute and repeatable. So the two methods can be used as the quality control for this preparation.

**Key words:** Chromatography, high pressure liquid; Ephedrine; Pseudoephedrine; Peucedanum decursivum; Ramulus uncariae cumuncis; TCD physic chem identi

宣肺祛风合剂是江苏省中医院自制制剂,在临床使用 20 余载,具有祛风化痰、抗敏肃肺的功效<sup>[1]</sup>。适用于儿童过敏性咳嗽风痰恋肺者,疗效确切、明显。本方由麻黄、百部(蜜)、前胡、钩藤、法半夏等十味中药组成,方中所用药材,化学成分比较复杂。为了更好的控制药品质量,保证用药安全有效,本研究用高效液相色谱法(HPLC)测定了主要有效成分麻黄中麻黄碱和伪麻黄碱的含量;对前胡、钩藤进行了薄层

色谱法(TLC)鉴别。

### 1 仪器与试药

**1.1 仪器** LC-1100 型高效液相色谱仪(安捷伦),BP-211D 型电子分析天平(德国),KQ-1000 E 型医用超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司);硅胶 GF 254 板、硅胶 G 板(100 mm×200 mm,青岛海洋化工厂分厂)。

**1.2 试药** 盐酸麻黄碱对照品(ephedrine hydrochloride,批号:171242-200405,供含量测定用,含量为 99.8%);盐酸伪麻黄碱对照品(pseudoephedrine hydrochloride,批号:171237-200807,供含量测定用,含量为 99.8%);前胡对照药材(Peucedanum

基金项目:江苏省中医药局科技项目(LZ13039)

通信作者:陈晓斌,女,主任中药师,研究方向:中药制剂, E-mail:

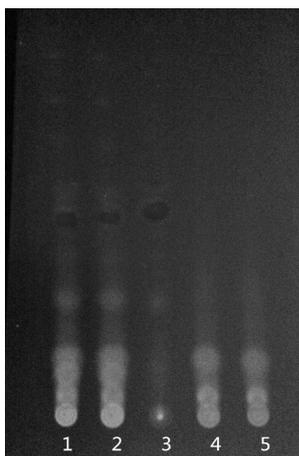
chxb67@163.com

praeruptorum Dunn,批号:120951-201205,供薄层鉴别用);钩藤对照药材(Ramulus Uncariae Cum Uncis批号:121190-201204,供薄层鉴别用)均购于中国食品药品检定研究所;宣肺祛风合剂(批号:160313,160314,160315)由江苏省中医院制剂室生产;甲醇为色谱纯,液相用水为超纯水,乙酸乙酯、乙醚、石油醚等化学试剂为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 薄层鉴别

**2.1.1 前胡 TLC 定性鉴别**<sup>[2]</sup> 吸取宣肺祛风合剂 40 mL,加入三氯甲烷,萃取 2 次,每次 20 mL,合并萃取液,挥干,残渣加甲醇 1 mL,作为供试品溶液;另取前胡对照药材 1 g,加入三氯甲烷 10 mL,超声提取 30 min,过滤,滤液挥干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为对照药材溶液;再取前胡阴性对照品(除前胡外其他处方药材,按制备工艺制成)40 mL,同法制成前胡阴性对照溶液;照薄层色谱法试验,分别吸取供试品溶液、阴性对照溶液各 20  $\mu$ L,对照药材溶液 10  $\mu$ L,点于同一硅胶 G 薄层板(105  $^{\circ}$ C 活化 30 min)上,展开剂是以 3:1 比例配制的石油醚(60~90  $^{\circ}$ C)-乙酸乙酯试液,展开后取出,晾干至无味,以 10% 硫酸乙醇溶液显色,105  $^{\circ}$ C 加热 2 min 后,置 365 nm 的紫外光灯下检视,结果在与前胡对照药材色谱相应的位置上,供试品色谱呈现相同的蓝色荧光斑点,而阴性样品色谱无上述斑点。见图 1。

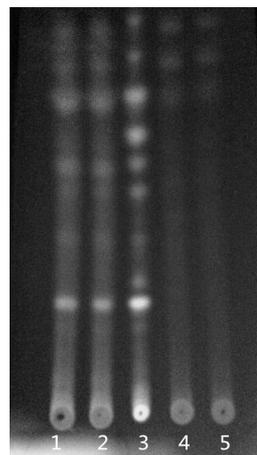


注:1 和 2 为制剂样品;3 为前胡对照药材;4 和 5 为阴性对照样品

图 1 宣肺祛风合剂前胡薄层鉴别图

**2.1.2 钩藤 TLC 定性鉴别**<sup>[3-5]</sup> 取宣肺祛风合剂 50 mL,加水稀释成 100 mL,加入三氯甲烷萃取 3 次(分别为 30 mL,20 mL,20 mL),合并萃取液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取钩藤对照药材 1 g,置三角烧瓶中,加三氯甲烷 50

mL,加热回流 2 h,放冷,滤过,滤液挥干后,加甲醇 1 mL 使溶解,作为对照药材溶液;再取钩藤阴性对照品(除钩藤外其它处方药材,按制备工艺制成)50 mL,按供试品处理方法制成阴性对照溶液;照薄层色谱法试验,分别吸取供试品溶液、阴性对照溶液 20  $\mu$ L,对照药材溶液 15  $\mu$ L 点于同一硅胶 G 薄层板上,展开剂是 10:4:1 比例配制的氯仿-乙酸乙酯-甲醇溶液,展开后取出,晾干至无味,置 365 nm 的紫外光灯下检视,结果与钩藤对照药材色谱相应的位置上,供试品色谱呈现相同的蓝绿色荧光斑点,而阴性样品色谱无上述斑点。见图 2。



注:1 和 2 为制剂样品;3 为钩藤对照药材;4 和 5 为阴性对照样品

图 2 宣肺祛风合剂钩藤薄层鉴别图

### 2.2 含量测定

**2.2.1 色谱条件及系统适用性** Supelco ODS  $C_{18}$  色谱柱(250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m),流动相:乙腈-0.2% 磷酸水溶液(3:97);检测波长:210 nm。柱温:30  $^{\circ}$ C;流速:1.0 mL  $\cdot$  mL<sup>-1</sup>。理论板数按盐酸麻黄碱( $C_{10}H_{15}NO \cdot HCl$ )来计算,不小于 3 000;分离度大于 1.5。

#### 2.2.2 溶液的制备

**2.2.2.1 混合对照品溶液的制备** 精密称取盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱对照品适量,加甲醇溶解制成每 1 mL 含 1.080 mg 盐酸麻黄碱及 1.000 mg 盐酸伪麻黄碱溶液,即得。

**2.2.2.2 供试品溶液的制备** 取宣肺祛风合剂,精密吸取 20 mL,置 500 mL 烧瓶中,加水 100 mL,20% NaOH 溶液 120 mL,NaCl 7.5 g,加热蒸馏,于蒸馏液中加入 0.5 mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 稀 HCl 溶液 5 mL,至馏出液约 120 mL 后,转移至 200 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀,用 0.45  $\mu$ m 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

**2.2.3 专属性试验** 取按宣肺祛风合剂制备工艺生

产的不含麻黄的阴性样品,按“2.2.2.2”法制成阴性样品溶液,分别吸取对照品溶液、供试品溶液和阴性样品溶液各 10  $\mu$ L,注入液相色谱仪,测定。结果表明:阴性样品的 HPLC 图谱中在与对照品盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱 HPLC 图谱中相同的保留时间处无吸收峰,阴性无干扰,该方法有较强的专属性。结果见图 3。

**2.2.4 标准曲线的制备** 取上述对照品溶液,用甲醇分别稀释至麻黄碱浓度为 54.00、27.00、13.50、6.75、3.375、1.687 5、0.843 75  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,及伪麻黄碱浓度为 50.00、25.00、12.50、6.25、3.125、1.562 5、0.781 25  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,分别精密吸取各不同浓度的对照品溶液 10  $\mu$ L,注入高效液相色谱仪中测定。经线性回归,得盐酸麻黄碱回归方程  $Y = 19.48X + 12.554$ ,  $r^2 = 0.9999$ ,盐酸麻黄碱在 0.843 75 ~ 54.00  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  范围内,与峰面积的积分值呈良好的线性关系,盐酸伪麻黄碱回归方程  $Y = 19.816X + 12.468$ ,  $r^2 = 0.9999$ ,盐酸伪麻黄碱在

0.781 25 ~ 50.00  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  范围内,与峰面积的积分值呈良好的线性关系。

**2.2.5 稳定性试验** 取批号为 160313 的供试品溶液,按上述“2.2.1”色谱条件,于 0、2、4、6、8、12 h 分别进样,测定色谱峰面积,计算,结果 RSD 分别为:盐酸麻黄碱为 0.86%,盐酸伪麻黄碱为 0.68%,说明供试品在 12 h 内稳定。

**2.2.6 精密度试验** 精密吸取“2.2.2.1”混合对照品溶液,按上述“2.2.1”色谱条件,连续进样 6 次,测定,以峰面积积分值计算,结果:RSD 分别为盐酸麻黄碱 0.35%,盐酸伪麻黄碱 0.77%,表明该仪器精密度能满足要求。

**2.2.7 重复性试验** 精密吸取批号为 160313 的样品 6 份,按上述“2.2.2.2”制备供试品溶液,按上述“2.2.1”色谱条件进样,测定,计算结果:RSD 分别为盐酸麻黄碱 0.54%,盐酸伪麻黄碱为 0.48%。表明重复性良好。

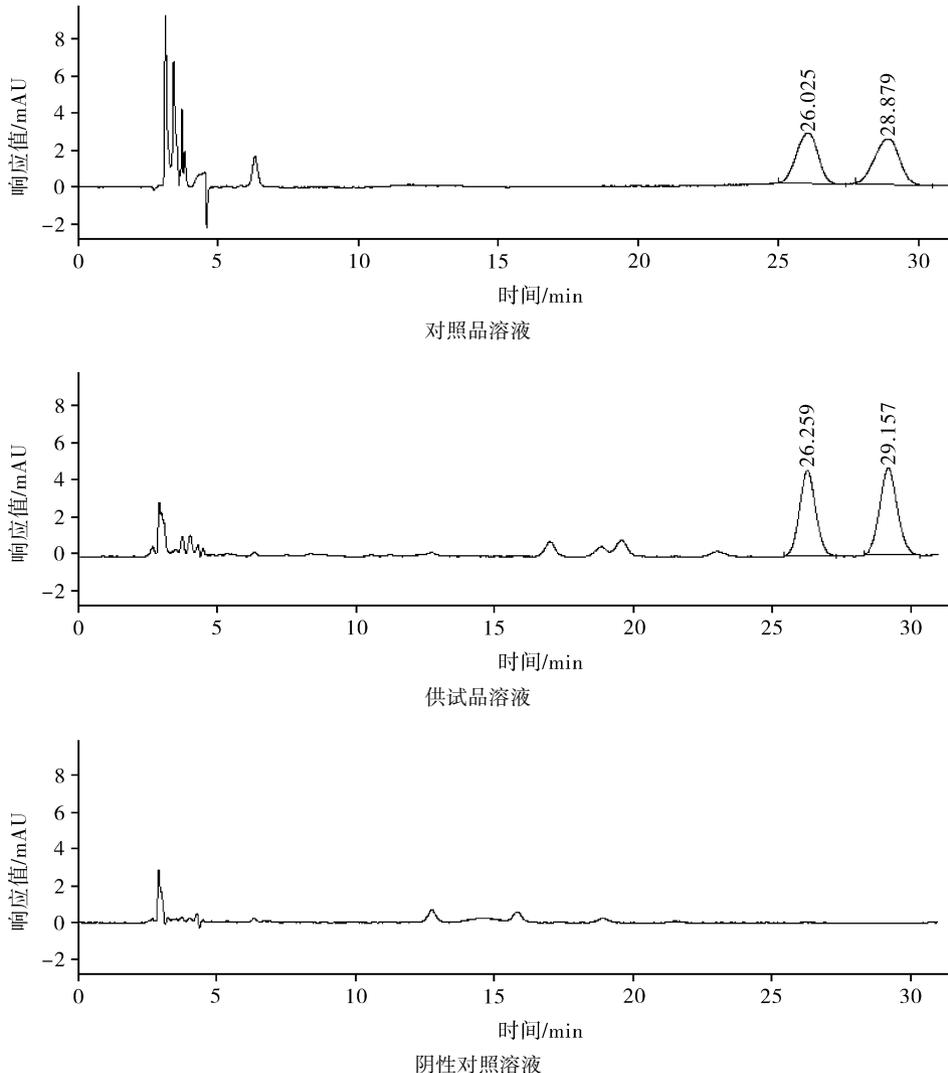


图3 专属性试验

**2.2.8 加样回收试验** 精密吸取宣肺祛风合剂(160313)10 mL共6份,分别加入“2.2.2.1”对照品,以“2.2.2.2”项下方法制备样品溶液,进样,测定,计算,结果见表1,2。

**表1 盐酸麻黄碱加样回收率表**

取样量/ mL	样品中 含量/ mg	盐酸麻黄碱 加入量/ mg	测得 量/mg	回收 率/%	平均 回收 率/%	RSD/ %
10	0.845	0.9	1.723	97.5	98.2	2.4
10	0.845	0.9	1.709	96.1		
10	0.845	0.9	1.746	98.0		
10	0.845	0.9	1.772	95.6		
10	0.845	0.9	1.849	101.0		
10	0.845	0.9	1.875	101.1		

**表2 盐酸伪麻黄碱加样回收率表**

取样量/ mL	样品中 含量/ mg	盐酸伪麻黄碱 加入量/ mg	测得 量/mg	回收 率/%	平均 回收 率/%	RSD/ %
10	0.902	0.9	1.761	95.6	97.9	1.7
10	0.902	0.9	1.792	98.7		
10	0.902	0.9	1.791	98.7		
10	0.902	0.9	1.800	99.8		
10	0.902	0.9	1.761	95.9		
10	0.902	0.9	1.792	98.9		

**2.2.9 样品测定** 取3个批号的宣肺祛风合剂样品,每批2份,按上述“2.2.2.2”制备供试品溶液,进样,测定,计算。3批样品中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量结果见表3。

**表3 样品含量结果表(n=2)**

样品批号	盐酸麻黄碱 含量/mg·L <sup>-1</sup>	盐酸伪麻黄碱 含量/mg·L <sup>-1</sup>
160413	50.02	53.45
160414	60.63	63.75
160415	50.99	53.77

### 3 讨论

试验中前胡的薄层色谱方法,是在药典方法的基础上,进行改进,获得满意的分离。

试验中钩藤薄层色谱曾采用药典方法,将样品碱化处理,用多种展开剂试验:石油醚(60-90):丙酮=6:4;氯仿:乙酸乙酯:甲醇=10:4:1;氯仿:乙酸乙酯:甲醇=20:4:1,均未获得满意的结果。后改用本试验所用方法,用三氯甲烷萃取,以氯仿-乙酸乙酯-甲醇(10:4:1)为展开剂,置紫外光灯(365 nm)下检视,结果本试验所用方法薄层色谱分离效果好,斑点圆整,重现性和专属性好,阴性对照无干扰。

对于含量测定,中国药典中有15种含麻黄的成药,其供试品前处理方法不尽相同,有采用蒸馏法、乙醚萃取法、中性氧化铝柱法,以及使用D101树脂、固相萃取柱、回流和酸提取方法。有文献<sup>[6-10]</sup>报道,其中样品的纯化程度以萃取法最高,蒸馏法次之;考虑到乙醚萃取方法提取率较低,样品损失较大,本试验选择了蒸馏法,获得了较高的提取率,并且分离度良好。

麻黄碱为易制毒类化学品,应规定含量上下限。中国药典2015版一部的规定,麻黄药材中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的总量不少于0.80%,而宣肺祛风合剂中麻黄所占比例为2.0%。前期工艺研究表明其有效成分转移率约为50%,宣肺祛风合剂中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的理论总量应不少于80.0 mg·L<sup>-1</sup>,而按其含量上限应为下限的3倍计应为240.0 mg·L<sup>-1</sup>,故推荐宣肺祛风合剂中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱总含量的限度为80.0 mg·L<sup>-1</sup>~240.0 mg·L<sup>-1</sup>。本试验所制备的3批均在该限度范围。

宣肺祛风合剂原有质量标准只有pH和相对密度测定,为了更好的控制制剂质量,我们增加了薄层色谱鉴别和含量测定,为制剂质量的提高提供依据。

### 参考文献

- [1] 袁斌,李江全,王明明,等.宣肺祛风汤治疗儿童过敏性咳嗽风痰恋肺证40例临床观察[J].中医杂志,2015,56(16):1398-1400. DOI:10.13288/j.11-2166/r.2015.16.014.
- [2] 国家药典委员会.中国药典(一部)[S].北京:中国医药科技出版社,2015:265.
- [3] 胡乃合.更年安片质量标准提高的研究[J].山东中医药大学学报,2016,40(4):373-376.
- [4] 巩伟,王莉,赵庆华,等.钩葛定眩颗粒质量标准研究[J].中华中医药学刊,2014,32(9):2213-2215.
- [5] 李钦青,郭蕾,张俊龙,等.复方天麻钩藤口腔崩解片质量标准研究[J].中国中医药信息杂志,2014(2):85-87. DOI:10.3969/j.issn.1005-5304.2014.02.025.
- [6] 毕福钧,林彤.HPLC法测定小儿咳喘灵口服液盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱含量[J].中药新药与临床药理,2014,25(4):490-493.
- [7] 陆昕,王永毅,徐康康.儿童咳喘颗粒质量标准研究[J].安徽医药,2011,15(12):1504-1506. DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2011.12.015.
- [8] 曾永长,张莉,曾晓燕.HPLC法测定藜蘆口服液盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J].中药新药与临床药理,2015,26(2):252-255.
- [9] 付静,朱月月,聂诗明.高效液相色谱法测定半夏糖浆中麻黄碱和伪麻黄碱含量[J].中国药业,2015,24(22):114-115.
- [10] 湛雯,景霞,孙芳,等.HPLC法同时测定小儿复方哮喘西林滴鼻液中的盐酸麻黄碱与伪麻黄碱含量[J].安徽医药,2016,20(1):50-53. DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2016.01.014.

(收稿日期:2016-08-25,修回日期:2016-10-20)