

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.24.014

## 消麻散质量标准研究\*

罗群, 杨忠明, 唐定洪, 黄锐, 李能源, 任桂林, 赵剑, 蒲清荣<sup>△</sup>

(西南医科大学附属中医医院, 四川 泸州 646000)

**摘要:**目的 建立消麻散的质量标准。方法 采用薄层色谱(TLC)法对制剂中的4种药材进行定性鉴别;对制剂中的3种药材进行显微鉴别;采用高效液相色谱(HPLC)法测定制剂中异欧前胡素含量,色谱柱为Shim-pack VP-ODS柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-0.1%磷酸(58:42, V/V),流速为1.0 mL/min,检测波长为320 nm,柱温为40 ℃,进样量为10 μL。结果 黄芪、羌活、秦艽、冰片的TLC图斑点清晰,分离度好,阴性对照无干扰。制剂粉末显微镜下显示,桂枝、红花、土鳖虫药材特征结构明显且唯一。异欧前胡素质量浓度在6.10~390.43 μg/mL( $R^2 = 0.9993, n = 7$ )范围内与峰面积线性关系良好;精密性、稳定性、重复性试验结果的RSD均小于0.5%;平均加样回收率为101.13%,RSD为1.08%( $n = 9$ )。结论 所建方法简单可行,专属性强,稳定性及重现性好,适用于消麻散的质量控制。

**关键词:**消麻散;质量标准;薄层色谱法;高效液相色谱法;显微鉴别;异欧前胡素

中图分类号:R917;R927

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)24-0058-05

### Quality Standard of Xiaoma Powder

LUO Qun, YANG Zhongming, TANG Dinghong, HUANG Rui, LI Nengyuan, REN Guilin, ZHAO Jian, PU Qingrong

(The Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan, China 646000)

**Abstract: Objective** To establish the quality standard of Xiaoma Powder. **Methods** The four kinds of medicinal materials in the preparation were identified by the thin-layer chromatography (TLC) method. The three kinds of medicinal materials in the preparation were identified by the microscopic identification. The content of isoimperatorin in the preparation was determined by the high-performance liquid chromatography (HPLC), the chromatographic column was Shim-pack VP-ODS column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile-0.1% phosphoric acid (58:42, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 320 nm, the column temperature was 40 ℃, and the injection volume was 10 μL. **Results** The TLC spots of Astragali Radix, Notopterygii Rhizoma et Radix, Gentiana Macrophyllae Radix, and Borneol were clear and well separated, and the negative control had no interference. The microscopic image of the preparation powder showed that the characteristic structures of Cinnamomi Ramulus, Carthami Flos, and Eupolyphaga Steleophaga were obvious and unique. The linear range of isoimperatorin was 6.10-390.43 μg/mL ( $R^2 = 0.9993, n = 7$ ). The RSDs of precision, stability and repeatability tests were all less than 0.5%. The average recovery of isoimperatorin was 101.13% with an RSD of 1.08% ( $n = 9$ ). **Conclusion** The established method is simple, feasible, specific, stable and reproducible, which is suitable for the quality control of Xiaoma Powder.

**Key words:** Xiaoma Powder; quality standard; HPLC; TLC; microscopic identification; isoimperatorin

消麻散由羌活、黄芪、秦艽、红花、桂枝、土鳖虫、冰片、艾叶等15味中药饮片组方,有温养经脉、活血通络、消肿止痛、祛风除痹功效。慢性骨关节炎、化学药物治疗(简称化疗)后周围神经病变及中风患者均具有麻、痛、感觉迟钝等症状,同属中医痹症、痿证等病证,发病主要与机体的虚、瘀、寒、湿等有关。消麻散以外敷或浸泡,直达病所,疏通经络,加速血液循环,激发机体自身免疫功能而起效,以期寒者温之、湿者利之、瘀者化之以通,虚者补之以荣,从而达到异病同治的目的,但目前消麻散缺乏行之有效的质量控制方法。为此,本研究中对制剂桂枝(石细胞)、红花(花粉粒)、土鳖虫(圆形毛窝、刚毛)的特征结构进行显微鉴别,采用薄层色谱

(TLC)法对秦艽等4味中药进行定性鉴别,采用高效液相色谱(HPLC)法测定羌活的主要药效成分异欧前胡素含量,为建立消麻散质量标准提供依据。现报道如下。

### 1 仪器与试剂

#### 1.1 仪器

LC-20A型高效液相色谱仪、AUW120D型十万分之一电子分析天平(日本Shimadzu公司);CX33型显微镜(日本Olympus公司);JPCT0328型超声波提取器(武汉嘉鹏电子有限公司);JA-SERIES型电子分析天平(常州市幸运电子设备有限公司,精度为千分之一);Good-Look-1000型薄层色谱成像系统(上海科哲生化科技

\*基金项目:四川省中医药管理局中医药科学技术研究专项课题[2021MS020]。

第一作者:罗群,女,大学本科,主管中药师,研究方向为中药制剂开发,(电子信箱)1131687395@qq.com。

<sup>△</sup>通信作者:蒲清荣,男,大学本科,主任中药师,研究方向为中药制剂开发,(电子信箱)1074722743@qq.com。

有限公司);HH-4型数显恒温水浴锅(上海上登实验设备有限公司);HH-8型数显恒温水浴锅(江苏金怡仪器科技有限公司);HGZF-II-101-3型电热恒温鼓风干燥箱(上海跃进医疗器械有限公司)。

## 1.2 试药

消麻散(西南医科大学附属中医医院制剂室提供,批号分别为20210926,20210927,20210928,规格每袋50g);异欧前胡素对照品(含量99.6%)、黄芪甲苷对照品(含量96.8%)、冰片对照品(含量99.6%)、紫花前胡苷对照品(含量99.6%)、龙胆苦苷对照品(含量97.1%),均购于中国食品药品检定研究院,批号分别为110827-201812,110781-202118,111688-201602,111821-201604,110770-201918;硅胶G薄层板、硅胶GF<sub>254</sub>薄层板(青岛海洋化工有限公司,批号分别为20210520,20200217);乙腈、甲醇、磷酸均为色谱纯;其余试剂为分析纯;水为娃哈哈纯净水。

## 2 方法与结果

### 2.1 薄层色谱(TLC)鉴别

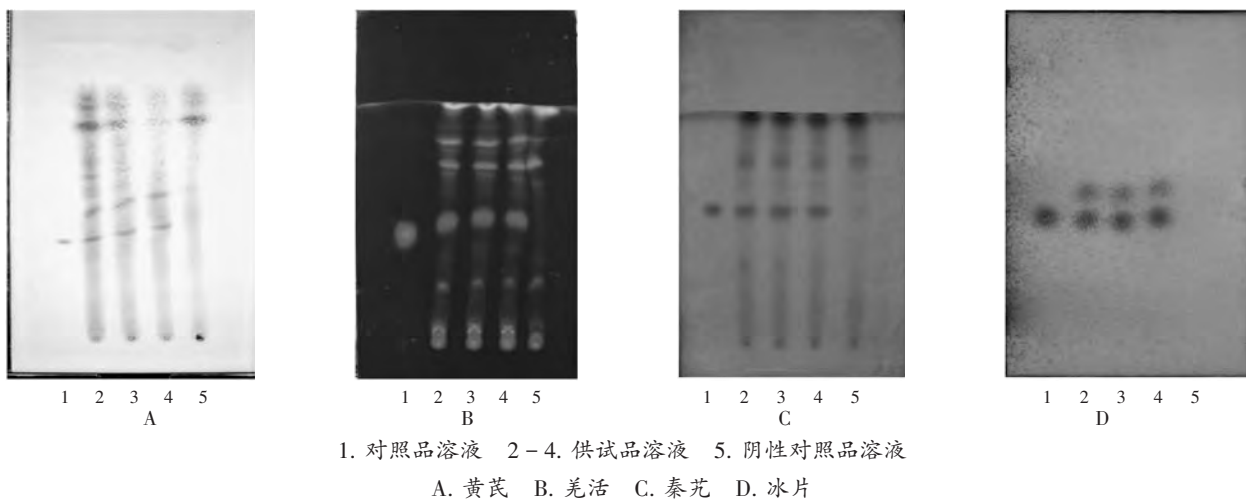
黄芪<sup>[1][2]315,1128</sup>:取样品10g,加入含4%浓氨试液的80%甲醇溶液100mL,置恒温水浴锅,回流提取1h,滤过,滤液蒸干,残渣分多次用水溶解,共10mL,加在D101型大孔吸附树脂柱(内径1.5cm,柱高12cm)上,加水50mL、40%乙醇30mL、70%乙醇80mL依次缓慢过柱洗脱,收集70%乙醇洗脱液,除去溶剂,残渣加甲醇2mL溶解,作为供试品溶液。取黄芪甲苷对照品适量,加甲醇溶解,制成质量浓度为1mg/mL的对照品溶液。按消麻散处方和工艺制备缺黄芪的阴性样品,同供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。吸取对照品溶液5μL、供试品溶液及阴性对照品溶液各5~10μL,

分别点于同一硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-水(13:7:2,V/V/V)下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,105℃加热显色,置日光灯下检视。供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应位置处显相同斑点,且阴性对照无干扰。详见图1A。

羌活<sup>[3-4]</sup>:取样品10g,置具塞锥形瓶中,加入甲醇25mL,混匀,超声(功率250W,频率50kHz;下同)提取20min,滤过,取滤液,作为供试品溶液。取紫花前胡苷对照品适量,加甲醇溶解,制成质量浓度为0.5mg/mL的对照品溶液。按消麻散处方和工艺制备缺羌活的阴性样品,同供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。吸取对照品溶液5μL、供试品溶液及阴性对照品溶液各10μL,点于同一硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-甲醇(8:2,V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365nm)下检视。供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应位置处显相同斑点,且阴性对照无干扰。详见图1B。

秦艽<sup>[5-6]</sup>:取样品5g,加入甲醇20mL,混匀,超声提取15min,滤过,取滤液,作为供试品溶液。称取龙胆苦苷对照品适量,加入甲醇溶解,制成质量浓度为1mg/mL的对照品溶液。按消麻散处方和工艺制备缺秦艽的阴性样品,同供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。吸取上述溶液各10μL,点于同一硅胶GF<sub>254</sub>薄层板上,以乙酸乙酯-甲醇-水(10:2:1,V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(254nm)下检视。供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应位置处显相同斑点,且阴性对照无干扰。详见图1C。

冰片<sup>[7]</sup>:取样品6g,加热升华,收集升华物,加乙醇



1. Reference solution 2-4. Test solution 5. Negative reference solution  
A. Astragali Radix B. Notopterygii Rhizoma et Radix C. Gentiana Macrophyllae Radix D. Borneol

图1 薄层色谱图  
Fig. 1 TLC chromatograms

1 mL溶解,作为供试品溶液。称取冰片对照品适量,加乙酸乙酯溶解,制成质量浓度为1 mg/mL的对照品溶液。按消麻散处方和工艺制备缺冰片的阴性样品,同供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。吸取上述溶液各5~10  $\mu\text{L}$ ,点于同一硅胶G薄层板上,以石油醚(60~90  $^{\circ}\text{C}$ ) - 乙酸乙酯(17:3, V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以5%香草醛硫酸溶液,105  $^{\circ}\text{C}$ 加热显色。供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应位置处显相同斑点,且阴性对照无干扰。详见图1D。

## 2.2 显微鉴别

取样品适量,挑取少量置载玻片上,加水合氯醛溶液加热透化2~3次,滴加稀甘油,盖上盖玻片,置显微镜下观察粉末特征结构。桂枝,石细胞类方形或类圆形,壁厚,有的一面菲薄;红花,花粉粒呈类圆形、椭圆形,有3个萌发孔,外壁有刺;土鳖虫,体壁碎片黄色或棕红色,有圆形毛窝,可见长短不一的刚毛。详见图2。表明桂枝、红花、土鳖虫的特征结构明显且唯一,检出率高,可列入制剂质量标准。

## 2.3 异欧前胡素含量测定

### 2.3.1 色谱条件

色谱柱:Shim-pack VP-ODS柱(250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ );流动相:乙腈-0.1%磷酸(58:42, V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:320 nm;柱温:40  $^{\circ}\text{C}$ ;进样量:10  $\mu\text{L}$ 。

### 2.3.2 溶液制备

取异欧前胡素对照品12.25 mg,精密称定,加甲醇制得质量浓度为1.220 1 mg/mL的对照品贮备液,精密量取0.4 mL,加甲醇稀释至10 mL,摇匀,制得质量浓度为48.80  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品溶液。取样品6 g,精密称定,加入甲醇50 mL,密塞,称定质量,超声处理30 min,放冷,再次称定质量,加甲醇补足减失的质量,摇匀,经0.22  $\mu\text{m}$ 滤膜,取续滤液,即得供试品溶液。按消麻散的处方与工艺制备缺羌活的阴性样品,同供试品溶液制

备方法制得阴性对照品溶液。

### 2.3.3 方法学考察

系统适用性与专属性试验:取2.3.2项下对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液各10  $\mu\text{L}$ ,按2.3.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果供试品溶液与对照品溶液色谱在相同保留时间处有相应色谱峰,理论板数按异欧前胡素峰计应不低于5 000。各成分基线分离良好,分离度 $>1.5$ ,且阴性对照无干扰,表明专属性良好。详见图3。

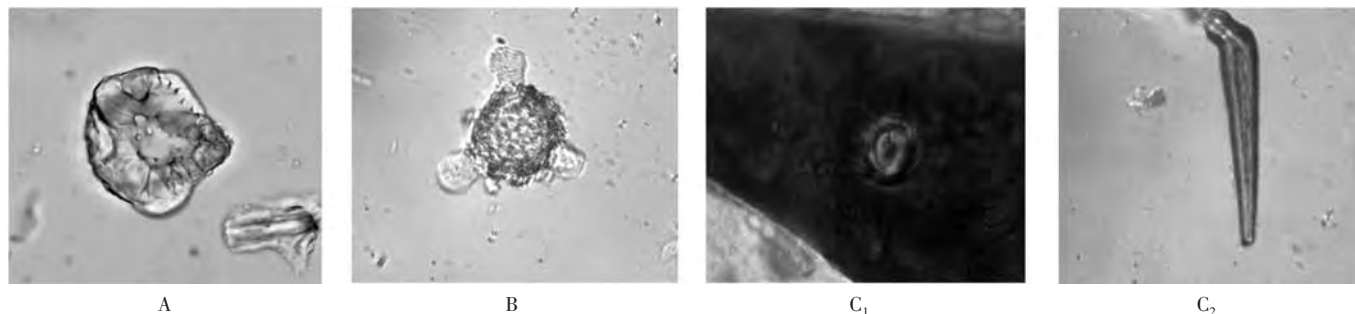
线性关系考察:精密量取2.3.2项下对照品贮备液适量,加甲醇稀释成质量浓度分别为6.10, 12.20, 24.40, 48.80, 97.61, 195.22, 390.43  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的系列对照品溶液,吸取10  $\mu\text{L}$ ,按2.3.1项下色谱条件进样测定。以待测成分质量浓度( $X, \mu\text{g}/\text{mL}$ )为横坐标,峰面积( $Y$ )为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 30\ 189X - 111\ 394$  ( $R^2 = 0.999\ 3$ )。结果表明,异欧前胡素质量浓度在6.10~390.43  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:取2.3.2项下对照品溶液适量,按2.3.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果异欧前胡素峰面积的RSD为0.05% ( $n = 6$ ),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取2.3.2项下供试品溶液适量,分别于室温下放置0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h时,按2.3.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果异欧前胡素峰面积的RSD为0.47% ( $n = 7$ ),表明供试品溶液在室温下放置24 h内基本稳定。

重复性试验:取样品(批号为20210926)6 g,精密称定,共6份,按2.3.2项下方法制备供试品溶液,按2.3.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算含量。结果异欧前胡素平均含量为385.5  $\mu\text{g}/\text{g}$ , RSD为0.28% ( $n = 6$ ),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的样品(批号为

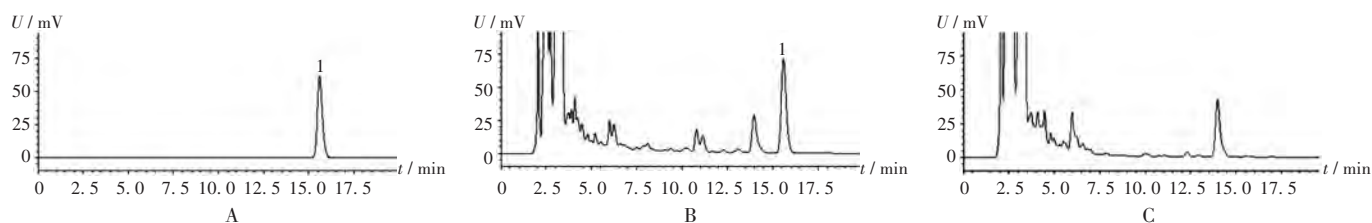


A. 桂枝 B. 红花 C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>. 土鳖虫

图2 显微鉴别图

A. Cinnamomi Ramulus B. Carthami Flos C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>. Eupolyphaga Steleophaga

Fig. 2 Microscopic identification images



1. 异欧前胡素  
A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图3 高效液相色谱图

1. Isoimperatorin  
A. Reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 3 HPLC chromatograms

20210926) 3 g, 共9份, 分别加入2.3.2项下对照品溶液(质量浓度为1.137 4 mg/mL) 0.5, 1.0, 1.5 mL, 按2.3.2项下方法制备供试品溶液, 按2.3.1项下色谱条件进样测定, 记录峰面积并计算加样回收率。结果见表1。

表1 加样回收试验结果(n=9)  
Tab. 1 Results of the recovery test (n=9)

样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)
1.158 4	0.568 7	1.721 9	99.09		
1.160 0	0.568 7	1.736 9	101.44		
1.156 5	0.568 7	1.724 0	99.79		
1.292 2	1.137 4	2.450 9	101.87		
1.291 4	1.137 4	2.437 7	100.78	101.13	1.08
1.292 9	1.137 4	2.456 9	102.34		
1.195 8	1.706 1	2.918 9	101.00		
1.156 5	1.706 1	2.891 8	101.71		
1.156 5	1.706 1	2.898 7	102.12		

### 2.3.4 样品含量测定

取3批样品各6 g, 按2.3.2项下方法制备供试品溶液, 按2.3.1项下色谱条件进样测定, 记录峰面积并计算含量。结果异欧前胡素含量分别为385.7, 384.6, 384.7  $\mu\text{g/g}$ , 平均385.0  $\mu\text{g/g}$ 。根据《四川省医疗机构制剂研究技术指南(试行版)》, 制剂中指标性成分含量按80% 设限, 初步拟订消麻散中异欧前胡素含量不得少于308  $\mu\text{g/g}$ , 各批样品平均含量均符合要求。

### 3 讨论

本研究结果显示, 4味药材的TLC鉴别专属性较强, 阴性对照均无干扰, 色谱特征斑点清晰, 分离良好, 无拖尾现象, 可用于消麻散的质量控制。预试验中还参考2020年版《中国药典(一部)》及相关文献, 对组方中其余药味进行了TLC鉴别, 结果艾叶、当归、桂枝、制川乌阴性样品存在干扰, 红花供试品溶液色谱未见相同颜色主斑点。故5种成分的薄层鉴别暂未列入消麻散质量标准。

在制备黄芪供试品溶液时, 依据2020年版《中国药

典(一部)》方法用4%浓氨试液的80% 甲醇溶液提取<sup>[2]315</sup>, 或参考文献<sup>[8]</sup>依次用甲醇提取、水饱和正丁醇萃取、0.1% 氢氧化钠溶液和正丁醇饱和的水洗涤, 结果发现TLC斑点多, 分离效果欠佳, 在日光灯或紫外光灯(365 nm)下黄芪甲苷特征斑点被其他成分掩盖, 鉴别效果欠佳。在此基础上, 将消麻散按药典方法得到的提取物过柱纯化, 结果特征斑点清晰, 分离效果良好, 且阴性对照无干扰, 故采用。冰片供试品溶液制备考察了乙醚<sup>[9]</sup>、乙酸乙酯<sup>[2]609</sup>、无水乙醇<sup>[10-11]</sup>超声提取, 供试品斑点多且分离度差, 特征斑点被掩盖, 改用升华方法收集升华物进行点样, TLC图斑点清晰, 分离度好, 方法耐用性较好, 故列入消麻散质量标准。

羌活能祛风胜湿、止痛, 医书言“太阳经头痛, 去诸骨节疼痛”, 主治肢节疼痛, 临床可用于行痹、痛痹、寒痹等痹症, 而消麻散可用于治疗慢性骨关节炎、化疗后周围神经病变及中风所致肢体麻木、疼痛、活动不利等, 均属中医“痹证”等范畴, 因此两药功效相似。现代药理学研究表明, 羌活具有抗炎、解热、镇痛、抗病毒、抗肿瘤细胞增殖、抗氧化等活性, 在治疗心脑血管、神经、消化、呼吸系统疾病、骨关节疾病、感染性疾病等方面有显著疗效<sup>[12]</sup>。羌活主要含有挥发油、香豆素类、糖类、氨基酸类等化学成分, 其中挥发油的解热抗炎镇痛作用、香豆素类成分紫花前胡苷的镇痛作用、异欧前胡素的抗炎作用较明显<sup>[13-14]</sup>。故在选择对紫花前胡苷进行TLC鉴别的基础上, 选择对含量较高、性质稳定, 且为药典中羌活含量测定规定的指标成分异欧前胡素进行含量测定<sup>[15]</sup>。

根据文献及药典中异欧前胡素含量测定条件, 在流动相选择方面, 将分离度结果与图谱峰的纯度分析相结合, 考察了乙腈-水(44:56, V/V)<sup>[16]</sup>、乙腈-0.1% 磷酸溶液(58:42, V/V)<sup>[17]</sup>两种流动相, 比较研究发现, 后者相对保留时间更短, 结果所得图谱基线平稳, 峰形良好, 保留时间较稳定且适中, 且色谱峰间的分离度良好。故选择。