

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2024)01-0073-06

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.01.016



咳喘合剂质量标准研究*

汪嘉丽¹, 薛平^{1△}, 李莉¹, 李均艳², 刘辉², 何一琴²

(1. 江苏省常州市食品药品纤维质量监督检验中心, 江苏 常州 213022; 2. 江苏省常州市武进中医医院, 江苏 常州 213161)

摘要:目的 提升咳喘合剂的质量标准。方法 采用薄层色谱法对咳喘合剂中麻黄、甘草、苦杏仁进行定性鉴别;依据2020年版《中国药典(四部)》进行pH、相对密度与装量检查;采用高效液相色谱法测定制剂中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量,色谱柱为Waters XBridge C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为0.01 mol/L磷酸二氢钾溶液(用磷酸调pH至2.3)-甲醇(11:89, V/V),流速为1.0 mL/min,柱温为35℃,检测波长为210 nm,进样量为10 μL。结果 麻黄、甘草、苦杏仁的薄层色谱斑点清晰,分离度良好,且阴性对照无干扰。10批样品(规格为每瓶250 mL)的pH为4.81~4.96,相对密度为1.030 4~1.047 7,平均装量为248~258 mL。盐酸麻黄碱及盐酸伪麻黄碱的质量浓度分别在0.523~41.800 μg/mL和0.269~21.537 μg/mL($r=1.000\ 0$, $n=8$)范围内与峰面积线性关系良好;重复性、精密性、稳定性试验结果的RSD均小于3.0%;平均加样回收率分别为92.00%和102.07%,RSD分别为2.54%和2.62%($n=6$)。结论 该方法操作简便、结果准确、重复性好,可用于咳喘合剂的质量控制。

关键词:咳喘合剂;薄层色谱法;高效液相色谱法;盐酸麻黄碱;盐酸伪麻黄碱;质量标准

Quality Standard of Kechuan Mixture

WANG Jiali¹, XUE Ping¹, LI Li¹, LI Junyan², LIU Hui², HE Yiqin²

(1. Jiangsu Changzhou Food and Drug Fiber Quality Supervision and Inspection Center, Changzhou, Jiangsu, China 213022; 2. Jiangsu Changzhou

Wu Jin Traditional Chinese Medicine Hospital, Changzhou, Jiangsu, China 213161)

Abstract: Objective To improve the quality standard of Kechuan Mixture. **Methods** Ephedrae Herba, Glycyrrhizae Radix et Rhizoma, Armeniacae Semen Amarum in Kechuan Mixture were qualitatively identified by the thin-layer chromatography (TLC) method. According to the Chinese Pharmacopoeia (2020 Edition, Volume IV), pH, relative density, and average loading capacity were determined. The contents of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride in Kechuan Mixture were determined by the high-performance liquid chromatography (HPLC) method, the chromatographic column was C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was 0.01 mol/L monopotassium phosphate solution (pH was adjusted to 2.3 with phosphoric acid)-methanol (11:89, V/V), the flow was 1.0 mL/min, the column temperature was 35℃, the detection wavelength was 210 nm, and the injection volume was 10 μL. **Results** The TLC spots of Ephedrae Herba, Glycyrrhizae Radix et Rhizoma and Armeniacae Semen Amarum were clear with good separation, without interference from the negative control. The pH was in the range of 4.81-4.96, the relative density was in the range of 1.030 4-1.047 7, and the average loading capacity was in the range of 248-258 mL in 10 batches of samples (with a specification of 250 mL per bottle). The linear ranges of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride were 0.523-41.800 μg/mL and 0.269-21.537 μg/mL ($r=1.000\ 0$, $n=8$). The RSDs of the repeatability, precision and stability test results were lower than 3.0%. The average recoveries of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride were 92.00% and 102.07% with RSDs of 2.54% and 2.62% ($n=6$), respectively. **Conclusion** The method is simple, accurate, and reproducible, which can be used for the quality control of Kechuan Mixture.

Key words: Kechuan Mixture; TLC; HPLC; ephedrine hydrochloride; pseudoephedrine hydrochloride; quality standard

咳喘合剂为医院制剂,由麻黄、苦杏仁、蝉蜕、葶苈子、地龙、白前、甘草、金荞麦、鱼腥草、川芎、法半夏、浙贝母12味中药材组方,诸药合用,共奏平喘止咳、清泻肺热、活血化瘀、化痰降气功效^[1],用于治疗咳嗽、痰多、支气管哮喘等。现行标准^[1]仅收录了性状、pH及制剂通则项下的检查项目,缺乏君药麻黄的含量控制及薄层色谱(TLC)鉴别项,为确保临床用药安全,加强药品质量控制,故增加相对密度测定,采用TLC法对制剂中麻黄、苦杏仁和甘草进行定性鉴别,采用高效液相色谱

(HPLC)法对制剂中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱进行含量测定,以提升制剂质量标准。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

e2695型高效液相色谱仪(美国Waters公司);Thermo U3000型高效液相色谱仪(美国Thermo Fisher公司);LC-20A型高效液相色谱仪(日本Shimadzu公司),配有二极管阵列(DAD)检测器;XP105DR型电子天平(精度为十万分之一),XPR204型电子天平(精度为万分之一),

第一作者:汪嘉丽,女,大学本科,主管药师,主要从事药品检验工作,(电子信箱)905783863@qq.com。

[△]通信作者:薛平,男,硕士研究生,副主任中药师,主要从事中药药品检验工作,(电子信箱)xuepinggo@163.com。

均购于美国 Mettler Toledo 公司; AUTOMATIC TLC SAMPLER4型全自动点样仪, TLC VISUALIZER型薄层色谱成像系统, 均购于瑞士 Camag 公司; KQ-400KDV 型超声仪(昆山市超声仪器有限公司, 功率为 400 W, 频率为 40 kHz)。

1.2 试药

哮喘合剂(常州市武进中医医院, 批号分别为 20220301, 20220302, 20220303, 20220304, 20220305, 20220306, 20220307, 20220308, 20220309, 20220310, 规格为每瓶 250 mL)常州市武进中医医院; 麻黄药材(江苏亚邦中药饮片有限公司, 批号分别为 20102201, 19111801; 苏华洪药业科技有限公司, 批号为 210418); 苦杏仁苷对照品(批号为 110820-202109, 纯度为 93.1%), 麻黄对照药材(批号分别为 121051-201606<草麻黄>和 121604-201502<中麻黄>), 甘草对照药材(批号分别为 120904-202021<甘草>和 121303-201704<胀果甘草>), 盐酸麻黄碱对照品(批号为 171241-201809, 纯度为 100%), 盐酸伪麻黄碱对照品(批号为 171237-201510, 纯度为 99.8%), 均购自中国食品药品检定研究院; 甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

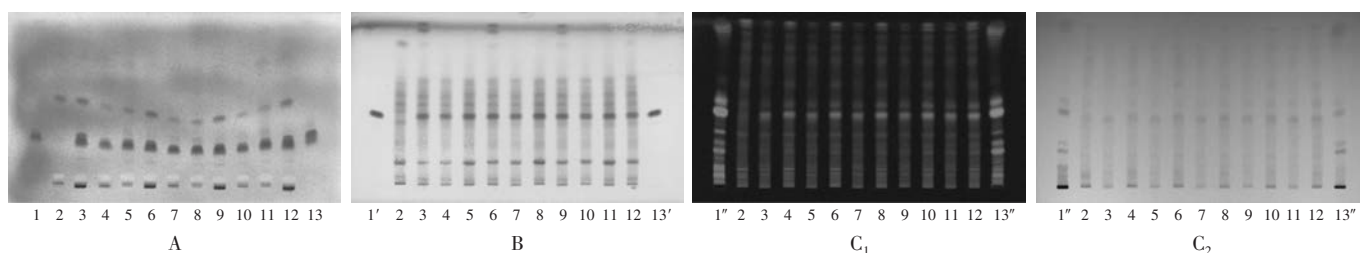
2.1 TLC 鉴别

麻黄: 取样品 20 mL, 加浓氨试液 1 mL, 用乙醚振摇提取 2 次, 每次 20 mL, 合并滤液, 加盐酸乙醇溶液(1→20) 1 mL, 摇匀, 蒸干, 残渣加甲醇 2 mL 使溶解, 即得供试品溶液。按处方与工艺制备缺麻黄的阴性样品, 同法制备阴性对照品溶液。取草麻黄和中麻黄对照药材各 1 g, 加浓氨试液 1 mL 使湿润, 再加乙醚 20 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液加盐酸乙醇溶液(1→20) 1 mL, 摇匀, 蒸干, 残渣加甲醇 2 mL 使溶解, 作为对照药材溶液。按 2020 年版《中国药典(四部)》通则 0502 TLC 法^[2], 吸取上述溶

液各 10 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-甲醇-浓氨试液(40:7:1, V/V/V)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以茚三酮试液, 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰, 置日光下检视。结果草麻黄和中麻黄对照药材溶液色谱中, 在与供试品溶液色谱相应位置显相同颜色的斑点, 且阴性对照无干扰。详见图 1 A。

苦杏仁: 取样品 25 mL, 用乙醚振摇提取 2 次, 每次 25 mL, 弃去乙醚液, 水液加水饱和正丁醇振摇提取 2 次, 每次 25 mL, 合并正丁醇液, 用氨试液洗涤 2 次, 每次 25 mL, 正丁醇液再用醋酸溶液(3→10)提取 2 次, 每次 25 mL, 合并醋酸液, 蒸干, 残渣加甲醇 2 mL 使溶解, 即得供试品溶液。按处方与工艺制备缺苦杏仁的阴性样品, 同法制备阴性对照品溶液。取苦杏仁苷对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液, 作为对照品溶液。按 2020 年版《中国药典(四部)》通则 0502 TLC 法^[2], 吸取上述溶液各 10 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以乙酸乙酯-甲醇-水(20:5:3, V/V/V)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以磷钼酸硫酸溶液(取磷钼酸 2 g, 加水 20 mL 使溶解, 再缓慢加入硫酸 30 mL, 混匀), 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰, 置日光下检视。结果苦杏仁苷对照品溶液色谱中, 在与供试品溶液色谱相应位置显相同颜色的斑点, 且阴性对照无干扰。详见图 1 B。

甘草: 取样品 25 mL, 用乙醚振摇提取 2 次, 每次 25 mL, 弃去乙醚液, 水液加水饱和正丁醇振摇提取 2 次, 每次 25 mL, 合并正丁醇液, 用氨试液洗涤 2 次, 每次 25 mL, 分取正丁醇液蒸干, 残渣加甲醇 2 mL 使溶解, 作为供试品溶液。按处方与工艺制备缺甘草的阴性样品, 同法制备阴性对照品溶液。取甘草和胀果甘草对照药材各 0.5 g, 加甲醇 50 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为对照药材溶液。按 2020 年版《中国药典(四部)》通则 0502 TLC 法^[2], 吸取上述溶液各 10 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以乙酸乙酯-



1, 13. 对照药材溶液(分别为中麻黄和草麻黄) 1', 13'. 对照品溶液 1'', 13''. 对照药材溶液(分别为甘草和胀果甘草)

2. 阴性对照品溶液 3-12. 供试品溶液

A. 麻黄(日光) B. 苦杏仁(日光) C₁, C₂. 甘草(365 nm和日光)

图1 薄层色谱图

1, 13. Reference medicinal materials solution (*Ephedra intermedia* and *Ephedra sinica*) 1', 13'. Reference solution 1'', 13''. Reference medicinal materials solution (*Glycyrrhiza uralensis* and *Glycyrrhiza inflata*) 2. Negative reference solution 3-12. Test solution

A. Ephedrae Herba (sunlight) B. Armeniaca Semen Amarum (sunlight) C₁, C₂. Glycyrrhizae Radix et Rhizoma (365 nm and sunlight)

Fig. 1 TLC chromatograms

甲酸-冰醋酸-水(15:1:1:2, V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,105℃加热至斑点显色清晰,置紫外光灯下(365 nm)及日光下检视。甘草和胀果甘草对照药材溶液色谱中,在与供试品溶液色谱相应位置分别显相同颜色的荧光斑点及斑点,且阴性对照无干扰。详见图1 C。

苦杏仁检测限:分别精密量取苦杏仁苷对照品溶液(质量浓度为0.093 2 mg/mL)0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0 μL, 点于同一薄层板上,观察斑点。当点样量为1.0 μL时,可见到样品斑点。苦杏仁苷对照品检测限为0.093 2 μg。详见图2。

2.2 pH、相对密度与装量检查

按2020年版《中国药典(四部)》通则0181合剂对10批样品进行pH、相对密度与装量测定,结果10批样品的pH为4.81~4.96,相对密度为1.030 4~1.047 7,平均装量为248~258 mL,表明咳喘合剂生产工艺稳定,符合药品质量控制要求。详见表1。

2.3 含量测定

2.3.1 色谱条件

色谱柱:Waters XBridge C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:0.01 mol/L磷酸二氢钾溶液(用磷酸调

pH至2.3)-甲醇(11:89, V/V);流速:1.0 mL/min;柱温:35℃;检测波长:210 nm;进样量:10 μL。

2.3.2 溶液制备

混合对照品溶液:取盐酸麻黄碱对照品、盐酸伪麻黄碱对照品各适量,精密称定,加流动相制成每1 mL含盐酸麻黄碱41.800 μg、盐酸伪麻黄碱21.537 μg的混合溶液,即得。

供试品溶液:精密量取样品10 mL,置500 mL圆底烧瓶中,加40%氢氧化钠溶液80 mL,摇匀,蒸馏,馏出液导入装有0.01 mol/L磷酸二氢钾溶液(磷酸调pH至2.3)5 mL的100 mL容量瓶中,待馏出液约为95 mL时停止蒸馏,放冷,加水定容,摇匀,取续滤液,过滤,即得。

阴性对照品溶液:按处方与工艺制备缺麻黄的阴性样品,再按供试品溶液制备方法制备,即得。

2.3.2 方法学考察

系统适用性试验及专属性试验:精密吸取2.3.2项下3种溶液各10 μL,按2.3.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果供试品溶液色谱中,在与混合对照品溶液色谱相同保留时间处有相应色谱峰,盐酸麻黄碱与盐酸伪麻黄碱分离度大于1.5,理论板数按盐酸麻黄碱峰计大于5 000,且阴性对照无干扰。详见图3。

线性关系考察:精密量取2.3.2项下混合对照品溶液适量,用流动相稀释成盐酸麻黄碱质量浓度为

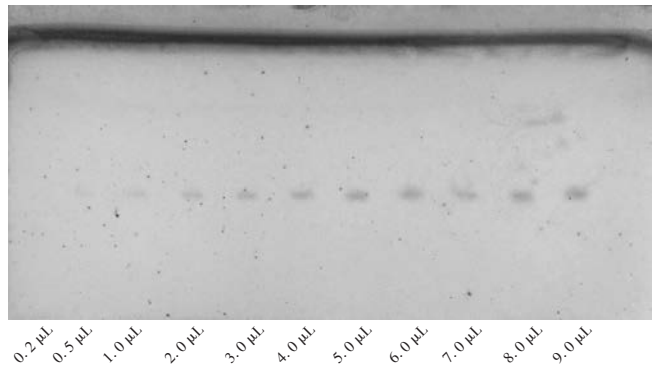
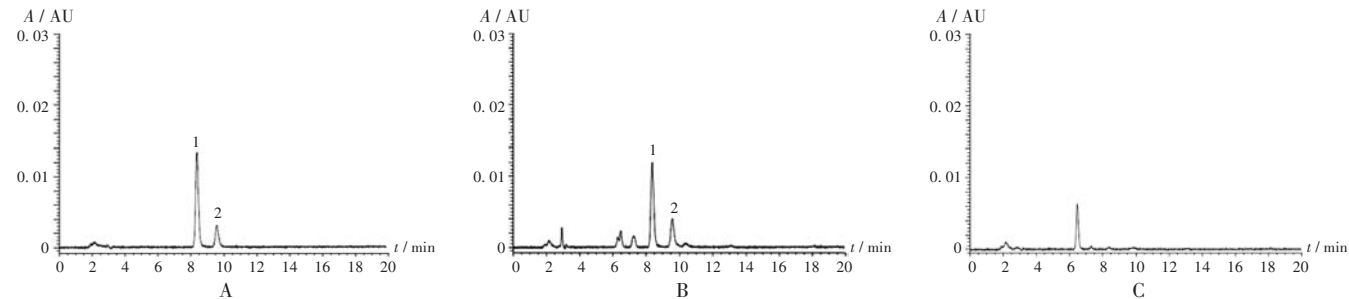


图2 苦杏仁苷检测限
Fig. 2 Limit of detection of amygdali



1. 盐酸麻黄碱 2. 盐酸伪麻黄碱
A. 混合对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图3 高效液相色谱图

1. Ephedrine hydrochloride 2. Pseudoephedrine hydrochloride
A. Mixed reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 3 HPLC chromatograms

0.523, 1.045, 2.090, 4.180, 8.360, 10.450, 20.900, 41.800 $\mu\text{g/mL}$ 和盐酸伪麻黄碱质量浓度为0.269, 0.538, 1.077, 2.154, 4.307, 5.384, 10.768, 21.537 $\mu\text{g/mL}$ 的系列混合对照品溶液(分别标记为标准曲线溶液A-H), 各取10 μL , 按2.3.1项下色谱条件进样测定, 分别以盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱质量浓度(X , $\mu\text{g/mL}$)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归, 得回归方程 $Y_{\text{盐}} = 18\,984.7 X_{\text{盐}} - 817.58$ ($r = 1.000\,0, n = 8$), $Y_{\text{伪}} = 19\,570.1 X_{\text{伪}} - 717.3$ ($r = 1.000\,0, n = 8$)。结果表明, 盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱质量浓度分别在0.523~41.800 $\mu\text{g/mL}$ 和0.269~21.537 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好。

检测限与定量限考察: 精密量取标准曲线溶液C(盐酸麻黄碱质量浓度为2.090 $\mu\text{g/mL}$ 、盐酸伪麻黄碱质量浓度为1.077 $\mu\text{g/mL}$)5 mL, 置100 mL容量瓶中, 用流动相定容, 摇匀, 按2.3.1项下色谱条件进样测定, 盐酸麻黄碱信噪比(S/N)约为3:1, 检测限为1.045 $\mu\text{g/mL}$; 精密量取标准曲线溶液C 7 mL, 置100 mL容量瓶中, 用流动相定容, 摇匀, 按2.3.1项下色谱条件进样测定, 盐酸伪麻黄碱 S/N 约为3:1, 检测限为0.754 $\mu\text{g/mL}$ 。精密量取标准曲线溶液C 7 mL, 置100 mL容量瓶中, 用流动相定容, 摇匀, 按2.3.1项下色谱条件进样测定, 盐酸麻黄碱 S/N 约为10:1, 定量限为1.463 $\mu\text{g/mL}$; 精密量取标准曲线溶液A(盐酸麻黄碱质量浓度为0.523 $\mu\text{g/mL}$ 、盐酸伪麻黄碱质量浓度为0.269 $\mu\text{g/mL}$)7 mL, 置10 mL容量瓶中, 按2.3.1项下色谱条件进样测定, 盐酸伪麻黄碱 S/N 约为10:1, 定量限为1.883 $\mu\text{g/mL}$ 。

精密度试验: 取2.3.2项下混合对照品溶液适量, 按2.3.1项下色谱条件连续进样测定6次, 记录峰面积。结果盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱峰面积的 RSD 分别为1.16%和1.43% ($n = 6$), 表明仪器精密度良好。

重复性试验: 精密量取样品(批号为20220301)10 mL, 按2.3.2项下方法制备供试品溶液6份, 按2.3.1项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 并计算样品含量。结果盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱平均含量分别为74.95 $\mu\text{g/mL}$ 和25.88 $\mu\text{g/mL}$, RSD 分别为2.16%和1.59% ($n = 6$), 表明方法重复性良好。

稳定性试验: 精密量取样品(批号为20220301)10 mL, 按2.3.2项下方法制备供试品溶液, 分别于室温下放置0, 2, 6, 12, 20, 22, 26, 28 h时按2.3.1项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱峰面积的 RSD 分别为0.83%和2.18% ($n = 8$), 表明供试品溶液在室温放置28 h内稳定性良好。

中间精密度试验: 分别精密量取样品(批号为20220301)10 mL, 由3名实验人员按2.3.2项下方法制

备供试品溶液2份, 微调色谱条件, 分别选择3台不同品牌型号(Thermo U3000型、岛津LC-20A型、Waters e2695型)的高效液相色谱仪, 以及3根不同品牌型号[Waters XBridge C₁₈柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm), Agilent Zorbax SB-Aq柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm), Shimadzu Inertsil ODS-SP C₁₈柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm)]的色谱柱进样测定。结果盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱平均含量分别为74.51 $\mu\text{g/mL}$ 和27.21 $\mu\text{g/mL}$, RSD 分别为0.51%和4.76% ($n = 6$), 表明方法中间精密度良好。

加样回收试验: 精密量取已知含量的样品(批号为20220301)5 mL, 分别精密加入盐酸麻黄碱质量浓度为66.320 $\mu\text{g/mL}$ 、盐酸麻黄碱为24.192 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液5 mL, 按2.3.2项下方法制备供试品溶液6份, 按2.3.1项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 并计算回收率。结果见表2。

表2 加样回收试验结果($n = 6$)
Tab.2 Results of the recovery test ($n = 6$)

样品含量(μg)		加入量(μg)		测得量(μg)		回收率(%)		$\bar{X}$ (%)		RSD (%)	
A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
375.10	133.00	331.60	120.96	690.89	250.68	95.23	97.29	92.00	102.07	2.54	2.62
375.10	133.00	331.60	120.96	674.23	255.51	90.21	101.28				
375.10	133.00	331.60	120.96	679.54	257.61	91.81	103.02				
375.10	133.00	331.60	120.96	688.09	256.90	94.39	102.43				
375.10	133.00	331.60	120.96	671.45	260.30	87.37	105.24				
375.10	133.00	331.60	120.96	676.86	257.81	91.00	103.18				

注: A为盐酸麻黄碱, B为盐酸伪麻黄碱。

Note: A refers to ephedrine hydrochloride, and B refers to pseudoephedrine hydrochloride.

2.4 样品含量测定

精密量取10批样品各10 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, 每批平行测定2次, 分别计算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 样品中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱含量测定结果
Tab.3 Results of the content determination of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride in samples

批号	盐酸麻黄碱		盐酸伪麻黄碱		总含量 ($\mu\text{g/mL}$)
	含量($\mu\text{g/mL}$)	RSD (%)	含量($\mu\text{g/mL}$)	RSD (%)	
20220301	75.02	0.93	26.60	1.45	101.62
20220302	75.40	0.62	27.01	0.80	102.41
20220303	74.82	0.55	26.08	1.23	100.90
20220304	69.35	0.35	26.95	1.15	96.30
20220305	69.86	0.73	26.22	0.93	96.08
20220306	69.92	0.23	27.47	0.43	97.39
20220307	68.47	1.10	32.13	1.10	100.60
20220308	69.12	0.38	32.36	0.98	101.48
20220309	68.82	0.22	31.93	0.69	100.75
20220310	71.06	1.90	32.07	0.55	103.13

2.5 含量限制制订

2020年版《中国药典(一部)》麻黄项下指出,麻黄含盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的总量不得低于0.80%,故暂订咳喘合剂中含盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的总量不得低于64.7 μg/mL。取10批样品的麻黄药材各适量,按2020年版《中国药典(一部)》麻黄项下方法测定含量,依据处方(麻黄50 g)制得咳喘合剂1 000 mL,计算平均转移率,结果10批咳喘合剂含盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的总量为96.08~103.13 μg/mL,平均转移率为20.21%,均符合规定。详见表4。

表4 转移率测定结果

Tab. 4 Results of the determination of transfer rate

批号	原料含量(%)	样品含量(μg/mL)	转移率(%)
20220301	0.96	101.62	21.17
20220302	0.96	102.41	21.34
20220303	0.96	100.90	21.02
20220304	1.01	96.30	19.07
20220305	1.01	96.08	19.03
20220306	1.01	97.39	19.29
20220307	1.00	100.60	20.12
20220308	1.00	101.48	20.30
20220309	1.00	100.75	20.15
20220310	1.00	103.13	20.63

3 讨论

3.1 TLC鉴别

耐用性试验:麻黄、苦杏仁和甘草的TLC鉴别中,采用美国Merk公司的硅胶G薄层板,按2.1项下方法,分别于室温(22℃)和冰箱(8℃)展开,观察主斑点的分离度与拖尾情况,结果主斑点分离效果基本一致,均能满足试验要求。采用不同厂家(美国Merk公司、青岛海洋化工厂分厂、烟台市化学工业研究所)预制薄层板,按2.1项下方法,在相同温度和相对湿度(22℃、42%)环境下展开,结果色谱图中的斑点基本一致。通过不同展开条件(温度和相对湿度)、不同厂家生产的硅胶G薄层板进行3种药材的TLC鉴别,结果表明,选用的TLC法重复性好、耐用性强,可用于咳喘合剂中麻黄、苦杏仁和甘草的检查。

特征斑点选择:本研究中参考了2020年版《中国药典(一部)》,对方剂中的葶苈子(葶苈子对照药材)、地龙(地龙对照药材)、川芎(川芎对照药材)、浙贝母(浙贝母对照药材、贝母素甲和贝母素乙对照品)的TLC法进行了探讨,但因处方成分复杂,出现斑点未分开,背景干扰大,鉴别目标成分专属性低,且因制备工艺中的水煎煮后成分相互影响,出现不同薄层板斑点不对应的问题,重复性差,耐用性低,故本研究中暂未纳入。

对照药材选择:2020年版《中国药典(一部)》中麻黄来源有草麻黄、中麻黄和木贼麻黄,甘草来源有甘草、胀果甘草和光果甘草,但中国食品药品检定研究院网站国家药品标准物质目录仅能查询到草麻黄和中麻黄、甘草和胀果甘草,故本研究中仅采用上述对照药材进行TLC鉴别。

3.2 含量测定

流动相选择:参考文献,盐酸麻黄碱与盐酸伪麻黄碱HPLC法中,流动相中水相比比例高,如冉亚东等^[3]以0.2%磷酸溶液(含0.2%三乙胺)-乙腈(2:98,V/V)为流动相,杨媛媛等^[4]以乙腈-0.1%磷酸(3:97,V/V)为流动相,车爽等^[5]以0.092%磷酸溶液(0.04%三乙胺和0.02%二正丁胺)-甲醇(1.5:98.5,V/V)为流动相,对色谱柱的耐水性要求高,损坏大,多次试验的色谱峰理论板数降低明显,峰形差,拖尾因子从1.0变为1.1。本研究中采用0.01 mol/L磷酸二氢钾溶液(用磷酸调pH至2.3)-甲醇(11:89,V/V)为流动相,分离度好,理论板数高,不同品牌色谱柱的适用性强,且避免了三乙胺对色谱柱的损伤,实际使用经济效益高,且能同时满足分离度、拖尾因子、理论板数等的要求。

提取方法选择:目前,麻黄中盐酸麻黄碱与盐酸伪麻黄碱的主流提取方法有超声提取法^[6-8]、萃取法^[9-10]和蒸馏法^[11-12],咳喘合剂含12味中药,申丽莎等^[13]将样品加氨水碱化后用乙醚萃取,液液萃取过程中乳化严重;尝试采用2.3.1项下流动相和70%乙醇^[14]超声提取20 min,结果供试品溶液色谱图中,盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱出峰位置有较多杂质峰,干扰大,分离度不符合要求,故采用蒸馏法提取。精密量取样品(批号为20220301)10 mL,加不同体积(15,30,50,80,100 mL)的40%氢氧化钠溶液提取,结果表明,加入40%氢氧化钠溶液80 mL时,供试品溶液色谱图中,盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱峰面积最大,主成分提取完全,故选择加入40%氢氧化钠溶液80 mL作为提取溶剂用量。

3.3 方法评价

本研究中建立了咳喘合剂中君药麻黄及主要功效药味甘草和苦杏仁的TLC法,以及君药麻黄的有效成分盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的HPLC含量测定方法,并拟订君药麻黄含量的限度。该方法操作简便、重复性好、准确度高,可用于咳喘合剂的质量控制。

参考文献

[1] JSZBZ20090087Z,江苏省食品药品监督管理局标准 医疗机构制剂标准[S].
[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:59-60.