

中图分类号: R932; R284.1; R286.0 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)07-0065-04
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.07.014



杏苏止咳颗粒质量标准研究*

姚蓉¹, 于勇¹, 刘代群¹, 陈谢华¹, 罗疆南^{2,Δ}

(1. 湖南食品药品职业学院, 湖南长沙 410208; 2. 湖南省药品检验检测研究院, 湖南长沙 410001)

摘要:目的 提升杏苏止咳颗粒的质量标准。方法 采用薄层色谱法对制剂中的前胡、陈皮和桔梗进行定性鉴别;采用高效液相色谱法测定制剂中白花前胡甲素的含量,色谱柱为 Shiseido Capcell C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-水(65:35, V/V),流速为 1.0 mL/min,检测波长为 321 nm,柱温为 35 °C,进样量为 10 μL。结果 前胡、陈皮、桔梗的薄层色谱斑点清晰,分离度好,且阴性对照无干扰。白花前胡甲素的质量浓度在 2.056~51.4 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好($r=0.9999$, $n=6$);精密度、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 3.0% ($n=6$);平均加样回收率为 99.21%, RSD 为 2.01% ($n=6$)。样品中白花前胡甲素的含量为 0.0711~0.2182 mg/g ($n=3$)。结论 该方法操作简便、重复性好、结果准确,可用于杏苏止咳颗粒的质量控制。

关键词: 杏苏止咳颗粒;薄层色谱法;高效液相色谱法;白花前胡甲素;质量标准

Quality Standard of Xingsu Zhike Granules

YAO Rong¹, YU Yong¹, LIU Daiqun¹, CHEN Xiehua¹, LUO Jiangnan²

(1. Hunan Food and Drug Vocational College, Changsha, Hunan, China 410208; 2. Hunan Institute for Drug Control, Changsha, Hunan, China 410001)

Abstract: Objective To improve the quality standard of Xingsu Zhike Granules. **Methods** Peucedani Radix, Pericarpium Citri Reticulatae and Platycodonis Radix in the preparation were identified qualitatively by the thin-layer chromatography (TLC). The content of praeruptorin A in the preparation was determined by the high-performance liquid chromatography (HPLC), the chromatographic column was Shiseido Capcell C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol-water (65:35, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 321 nm, the column temperature was 35 °C, and the injection volume was 10 μL. **Results** The TLC spots of Peucedani Radix, Pericarpium Citri Reticulatae and Platycodonis Radix were clear and well separated, and the negative control had no interference. The linear range of praeruptorin A was 2.056-51.4 μg/mL ($r=0.9999$, $n=6$). The RSDs of precision, stability and repeatability tests were lower than 3.0% ($n=6$). The average recovery of praeruptorin A was 99.21% with an RSD of 2.01% ($n=6$). The content of praeruptorin A in samples was in the range of 0.0711-0.2182 mg/g ($n=3$). **Conclusion** The method is simple, reproducible and accurate, which can be used for quality control of Xingsu Zhike Granules.

Key words: Xingsu Zhike Granules; TLC; HPLC; praeruptorin A; quality standard

杏苏止咳颗粒为国家医保乙类中成药,由苦杏仁、陈皮、紫苏叶、前胡、桔梗、甘草6味药对组方,具有宣肺散寒、止咳祛痰功效,常用于治疗风寒感冒咳嗽和气逆^[1]。方中,苦杏仁和紫苏叶共为君药,前胡和桔梗共为臣药,陈皮为佐药,甘草为使药。杏苏止咳颗粒现行质量标准收载于2020年版《中国药典(一部)》,目前仅采用薄层色谱(TLC)法对紫苏叶、甘草进行定性鉴别,采用高效液相色谱(HPLC)法测定橙皮苷含量,而未对方中君药苦杏仁、臣药前胡和桔梗进行质量控制。苦杏仁含脂肪油较高,易泛油^[2-4],常见其含量不合格;桔梗常见掺白矾增重、水分超标、浸出物不合格等问题;前胡用药情况复杂,常以紫花前胡等其他前胡类混淆^[5-7]。因此,为确保该制剂安全、有效,对制剂中苦杏仁、前胡

和桔梗进行质量控制十分必要。本研究中建立了对前胡、陈皮、桔梗进行定性鉴别的TLC法,以及测定白花前胡甲素含量的HPLC法。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Waters2695e型高效液相色谱仪(美国Waters公司);AUW220D型电子分析天平(日本Shimadzu公司,精度为0.01 mg);KQ-500DE型超声清洗仪(昆山市超声仪器有限公司,功率为500 W,频率为40 kHz);薄层自动成像系统(瑞士Camag公司)。

1.2 试剂

杏苏止咳颗粒(集安市某药厂,批号为220125;广东省某药厂,批号分别为220308,211205;沈阳市某药

*基金项目:2021年度湖南省教育厅科学研究项目[21C1274]。

第一作者:姚蓉,女,硕士,讲师,研究方向为中药与药品质量标准,(电子信箱)157502966@qq.com。

Δ通信作者:罗疆南,女,硕士,副主任药师,研究方向为中药检验与药品质量标准,(电子信箱)63607640@qq.com。

厂,批号为20220101;通化市某药厂,批号为20220302);白花前胡甲素对照品(批号为111711-201703,含量为100%),橙皮苷对照品(批号为110721-202220,含量为100%),前胡对照药材(批号为120951-201706),陈皮对照药材(批号为120969-202011),桔梗对照药材(批号为121028-202113),均购自中国食品药品检定研究院;预制硅胶G板(200 mm × 200 mm,德国Merck公司);甲醇(色谱纯,天津科密欧化学试剂有限公司);乙醇等其他试剂均为分析纯;水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 TLC 鉴别

前胡^[1,8-9]:取样品15 g,研细,加甲醇50 mL,超声45 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水20 mL使溶解,用乙酸乙酯振摇提取2次,每次30 mL,水液备用,合并乙酸乙酯提取液,浓缩至1 mL,作为供试品溶液。取前胡对照药材1 g,加甲醇15 mL,超声处理45 min,滤过,滤液浓缩至1 mL,作为对照药材溶液。按杏苏止咳颗粒的制备工艺制备不含前胡的阴性样品,再按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。按2020年版《中国药典(四部)》通则0502 TLC法试验^[10],吸取上述3种溶液各10 μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以石油醚(60~90 °C)-乙酸乙酯(1:1, V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相应位置显相同颜色的荧光斑点,且阴性对照无干扰。详见图1 A。

陈皮^[11-13]:取前胡鉴别项下供试品溶液制备中备用的水液,置分液漏斗中,加水饱和的正丁醇,振摇,提取2次,每次30 mL,合并上层液,蒸干,残渣加甲醇1 mL使溶解,作为供试品溶液。取适量橙皮苷对照品,加甲醇制成饱和溶液,作为对照品溶液。取陈皮对照药

材1 g,加甲醇15 mL,超声45 min,滤过,滤液浓缩至1 mL,作为对照药材溶液。按杏苏止咳颗粒的制备工艺制备不含陈皮的阴性样品,再按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。按2020年版《中国药典(四部)》通则0502 TLC法试验,吸取上述4种溶液各10 μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以乙酸乙酯-甲醇-水(100:17:13, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以5%三氯化铝试液,加热至斑点显色清晰,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果供试品溶液色谱中,在与对照品溶液和对照药材溶液色谱相应位置均显相同颜色的荧光斑点,且阴性对照无干扰。详见图1 B。

桔梗^[14]:取桔梗对照药材0.5 g,加甲醇15 mL,超声45 min,滤过,滤液浓缩至1 mL,作为对照药材溶液。按杏苏止咳颗粒制备工艺制备不含桔梗的阴性样品,再按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。按2020年版《中国药典(四部)》通则0502 TLC法试验,吸取陈皮TLC鉴别项下的供试品溶液及上述2种溶液各5 μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯-甲醇-水(1:4:3:1, V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇试液,加热至斑点显色清晰,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相应位置显相同颜色的荧光斑点,且阴性对照无干扰。详见图1 C。

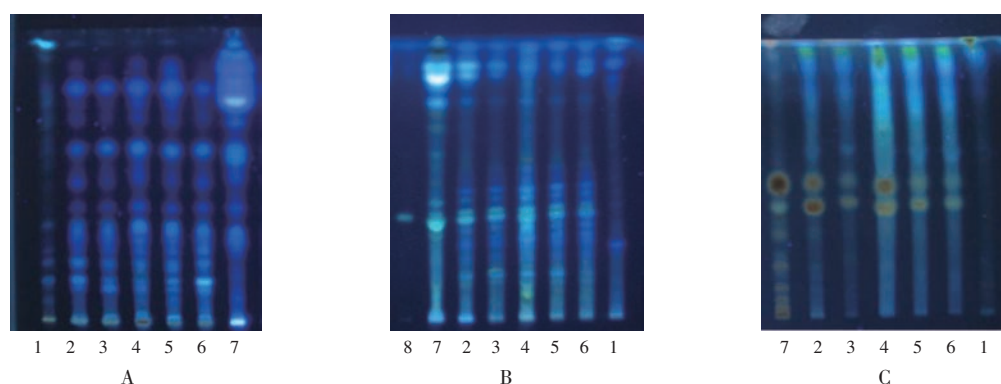
2.2 HPLC 法测定白花前胡甲素含量

2.2.1 色谱条件

色谱柱:Shiseido Capcell C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水(65:35, V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:321 nm;柱温:35 °C;进样量:10 μL。

2.2.2 溶液制备

取白花前胡甲素对照品10.28 mg,精密称定,置



1. 阴性对照品溶液 2 - 6. 供试品溶液 7. 对照药材溶液 8. 对照品溶液

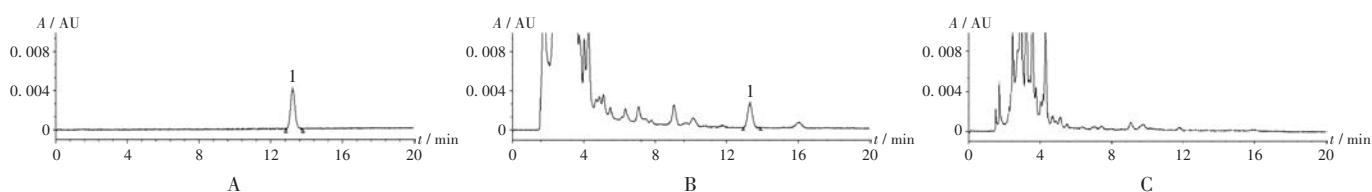
A. 前胡 B. 陈皮 C. 桔梗

图1 薄层色谱图(365 nm)

1. Negative reference solution 2 - 6. Test solution 7. Reference medicinal material solution 8. Reference solution

A. Peucedani Radix B. Pericarpium Citri Reticulatae C. Platycodonis Radix

Fig. 1 TLC chromatograms (365 nm)



1. 白花前胡甲素

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图2 高效液相色谱图

1. Praeruptorin A

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

Fig. 2 HPLC chromatograms

50 mL容量瓶中,加甲醇溶解并定容,即得质量浓度为0.2056 mg/mL的对照品贮备液。精密吸取对照品贮备液10 mL,置100 mL容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得质量浓度为0.02056 mg/mL的对照品溶液。取样品3 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入50 mL甲醇,密塞,称定质量,超声45 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。取前胡TLC鉴别项下不含前胡的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.2.3 方法学考察

专属性试验:精密吸取2.2.2项下3种溶液各10 μ L,按2.2.1项下色谱条件进样测定。结果供试品溶液色谱图中,白花前胡甲素与其他成分分离较好,分离度为6.9,理论板数为11784,且阴性对照无干扰,表明方法专属性良好。色谱图见图2。

线性关系考察:精密吸取2.2.2项下白花前胡甲素对照品贮备液0.5, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 12.5 mL,分别置50 mL容量瓶中,加甲醇定容,制成不同质量浓度的系列对照品溶液,精密吸取10 μ L,按2.2.1项下色谱条件进样测定,以对照品溶液质量浓度(X , μ 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 $Y = 3546.5X - 3000.9$ ($r = 0.9999, n = 6$)。结果表明,白花前胡甲素质量浓度在2.056 ~ 51.4 μ g/mL范围内与峰面积线性关系良好。

检测限确定:取2.2.2项下白花前胡甲素对照品溶液适量,倍比稀释,按2.2.1项下色谱条件进样测定,以信噪比(S/N)为3:1时的质量浓度为检测限。结果白花前胡甲素的检测限为1.028 μ g/mL。

精密度试验:取2.2.2项下对照品溶液适量,按2.2.1项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果白花前胡甲素峰面积的 RSD 为0.78% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

重复性试验:取样品(批号为211205)6份,精密称定,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,按2.2.1项下

色谱条件进样测定,计算白花前胡甲素的含量。结果白花前胡甲素平均含量为0.1216 mg/g, RSD 为2.12% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

稳定性试验:取重复性试验项下供试品溶液适量,分别于0, 2, 4, 8, 10, 12 h时按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果峰面积的 RSD 为1.37% ($n = 6$),表明供试品溶液在12 h内稳定性良好。

加样回收试验:取样品(批号为211205)6份,每份1.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,分别精密加入白花前胡甲素贮备液1 mL,按2.2.2项下方法制备供试品溶液,按2.2.1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1。

表1 加样回收试验结果 ($n = 6$)

Tab.1 Results of the recovery test ($n = 6$)

取样量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	\bar{X} (%)	RSD (%)
1.5117	0.1838	0.2056	0.3921	101.31	99.21	2.01
1.5029	0.1828	0.2056	0.3866	99.12		
1.5238	0.1853	0.2056	0.3934	101.22		
1.4849	0.1806	0.2056	0.3814	97.67		
1.4927	0.1815	0.2056	0.3794	96.25		
1.4833	0.1804	0.2056	0.3854	99.71		

2.2.4 样品含量测定

取5批样品,分别按2.2.2项下方法制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,平行测定3次,记录峰面积,并计算含量。结果见表2。

表2 样品中白花前胡甲素含量测定结果(mg/g, $n = 3$)

Tab.2 Results of the content determination of praeruptorin A in samples (mg/g, $n = 3$)

批号	1	2	3	\bar{X}
220125	0.1658	0.1689	0.1645	0.1664
220308	0.0751	0.0721	0.0661	0.0711
211205	0.1279	0.1188	0.1208	0.1225
20220101	0.1805	0.1901	0.1712	0.1806
20220302	0.2159	0.2204	0.2183	0.2182

3 讨论

3.1 TLC 鉴别

TLC 鉴别前胡时, 比较了乙酸乙酯和水饱和正丁醇 2 种溶剂的萃取效果, 发现乙酸乙酯萃取的供试品溶液主斑点颜色较水饱和正丁醇萃取的斑点明显, 且无背景干扰, 故选择乙酸乙酯为萃取溶剂。TLC 鉴别陈皮时, 展开系统比较了甲苯-乙酸乙酯-甲酸-水(20:10:1:1, V/V/V/V) 的上层溶液和乙酸乙酯-甲醇-水(100:17:13, V/V/V), 两者分离效果接近, 考虑到甲苯的毒性较大, 故选择乙酸乙酯-甲醇-水(100:17:13, V/V/V) 为展开剂。TLC 鉴别桔梗时, 展开系统比较了甲苯-乙酸乙酯-甲醇-水(1:4:3:1, V/V/V/V), 三氯甲烷-乙酸乙酯-甲酸(5:5:0.5, V/V/V), 三氯甲烷-乙醚(2:1, V/V), 结果斑点分离效果较差, 经多次试验发现, 环己烷-乙酸乙酯-甲醇-水(1:4:3:1, V/V/V/V) 为展开剂时的分离效果较好, 确定为展开剂。比较了在日光和紫外光(365 nm) 下的斑点显色情况, 结果荧光斑点更清晰。另外, 对该制剂中的苦杏仁进行了 TLC 鉴别, 发现斑点不明显, 故未纳入本研究。

3.2 含量测定研究

指标性成分选择: 前期试验中, 采用 HPLC 法同时测定该制剂中苦杏仁苷、白花前胡甲素和白花前胡乙素的含量, 结果苦杏仁苷和白花前胡乙素含量均极低, 且苦杏仁苷有干扰, 故本研究中只测定了白花前胡甲素的含量。前胡为该制剂的臣药, 前胡属植物种类较多, 外观形态相似, 极易混淆。前期试验中, 对市售的 14 批前胡药材进行了含量测定, 结果不同批次前胡饮片含量差异较大, 合格率较低, 前胡药材中白花前胡甲素的含量在 0~1.61% 之间^[15]。本研究中测定了 4 个厂家生产的 5 批杏苏止咳颗粒中白花前胡甲素的含量, 结果差异较大, 可能与生产时使用的前胡药材的质量关系较大。因此, 有必要测定该制剂中白花前胡甲素的含量, 以控制杏苏止咳颗粒中前胡的投料。

溶液制备方法选择: 考察了不同提取溶剂(50% 甲醇、70% 甲醇、甲醇、70% 乙醇、乙醇) 的提取效果, 结果甲醇的提取效果最好, 故选择提取溶剂为甲醇。考察了超声和回流 2 种提取方法, 结果提取效率相当, 因超声操作更简便, 故选择超声提取。考察了超声 30, 45, 60 min 时的提取效果, 结果超声 45 min 时基本提取完全, 故选择超声提取 45 min。

色谱条件选择: 参考文献^[16-18], 经多次试验, 最终采用甲醇-水(65:35, V/V) 为流动相, 白花前胡甲

素的出峰时间适当, 分离度也达到要求。

3.3 方法评价

本研究中建立的方法操作简单、重复性好、结果准确, 可用于杏苏止咳颗粒的质量控制。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 1000-1002.
- [2] 张国琴. 基于化学模式识别的中药苦杏仁化学品质研究[D]. 天津: 天津中医药大学, 2022.
- [3] 赵丽莹. 基于电子鼻技术苦杏仁“走油”预警模型的建立[D]. 北京: 北京中医药大学, 2017.
- [4] 郭星好, 曹光昭, 拱健婷, 等. 基于数学模型的苦杏仁走油变质过程拟合研究[J]. 现代中药研究与实践, 2022, 36(4): 36-41.
- [5] 刘天亮, 江维克, 舒国平, 等. 前胡产地与市场调研及研究热点与趋势可视化分析[J]. 中草药, 2022, 53(24): 7855-7863.
- [6] 刘英慧, 刘海涛, 付小艳. 基于指纹图谱结合化学模式识别的前胡和紫花前胡分类模型的建立[J]. 中南药学, 2023, 21(3): 790-795.
- [7] 单 锋, 郝近大, 黄璐琦. 2010 年版《中国药典》中“紫花前胡”功效描述的商榷[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(12): 2464-2469.
- [8] 李艳媚, 刘 佳, 古炳明. 前胡桑菊合剂质量标准提升研究[J]. 广东化工, 2022, 49(22): 192-193.
- [9] 谭云秀, 程 静. 薄层色谱法鉴别小儿平喘合剂中前胡、白芷与当归[J]. 中国民族民间医药, 2008, 17(11): 12-13.
- [10] 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.
- [11] 巢颖欣, 刘梦诗, 杨秀娟, 等. 薄层色谱法快速鉴别广陈皮与陈皮[J]. 中成药, 2021, 43(7): 1937-1940.
- [12] 曹建华. 用硅胶 G 板对健儿强身膏中的补骨脂、陈皮、续断进行薄层色谱鉴别的价值[J]. 当代医药论丛, 2019, 17(3): 197-199.
- [13] 郭琦丽, 吕武清. 药对陈皮-枳壳提取物中柚皮苷、橙皮苷和新橙皮苷的薄层鉴别[J]. 亚太传统医药, 2017, 13(17): 40-41.
- [14] 吴 佳, 石 克. 薄层色谱法鉴别桑菊感冒冲剂中的桔梗[J]. 中国药业, 2009, 18(23): 23-24.
- [15] 姚 蓉, 罗疆南. 湖南市场前胡药材的含量分析[J]. 中兽医医药杂志, 2019, 38(6): 64-66.
- [16] 李 运, 白贺明, 邱国玉, 等. HPLC 法同时测定杏苏止咳糖浆中 5 种成分[J]. 中成药, 2021, 43(8): 2002-2005.
- [17] 谭丽媛. 贾氏银柴退热汤的开发应用研究[D]. 晋中: 山西中医药大学, 2020.
- [18] 姚 蓉, 于 勇, 欧阳卉. 通宣理肺丸中前胡投料筛查及其特征成分测定[J]. 中兽医医药杂志, 2021, 40(1): 68-71.

(收稿日期: 2023-05-31; 修回日期: 2023-10-28)