

# 贝芩新咳合剂的质量标准研究<sup>Δ</sup>

沈洁<sup>1\*</sup>, 徐向辉<sup>2#</sup>, 徐军<sup>1</sup>, 车京梅<sup>1</sup>, 许伟英<sup>1</sup>, 任世禾<sup>1</sup> (1.上海市中医医院药剂科, 上海 200071; 2.上海建工医院药剂科, 上海 200083)

中图分类号 R283.61; R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)31-2939-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.31.21

**摘要** 目的: 建立贝芩新咳合剂的质量标准。方法: 采用薄层色谱(TLC)法对贝芩新咳合剂中的黄芩、百部和麻黄分别进行定性鉴别; 采用高效液相色谱法测定黄芩中黄芩苷的含量; 色谱柱为 Diamonsil C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水-磷酸(47:53:0.2, V/V/V), 流速为 1.0 ml/min, 检测波长为 280 nm。结果: 黄芩、百部、麻黄的 TLC 鉴别具有较好的专属性, 阴性对照无干扰。黄芩苷的进样量在 0.14~1.40 μg 范围内与其峰面积积分值呈良好的线性关系( $r=0.9997$ ); 精密性、稳定性、重复性试验的 RSD 均 < 2%; 平均加样回收率为 100.39%, RSD=2.76% ( $n=6$ )。结论: 所建标准可用于贝芩新咳合剂的质量控制。

**关键词** 贝芩新咳合剂; 质量标准; 黄芩苷; 黄芩; 百部; 麻黄; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

## Study on the Quality Standard of Beiqin Xinke Mixture

SHEN Jie<sup>1</sup>, XU Xiang-hui<sup>2</sup>, XU Jun<sup>1</sup>, CHE Jing-mei<sup>1</sup>, XU Wei-ying<sup>1</sup>, REN Shi-he<sup>1</sup> (1. Dept. of Pharmacy, Shanghai Hospital of TCM, Shanghai 200071, China; 2. Dept. of Pharmacy, Shanghai Jiangong Hospital, Shanghai 200083, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the quality standard of Beiqin xinke mixture. METHODS: *Scutellaria baicalensis*, *Stemona Radix* and *Ephedrae Herba* were identified by TLC. The content of baicalin in *S. baicalensis* was determined by HPLC. The determination was performed on Diamonsil C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm) column with mobile phase consisted of methanol-water-phosphoric acid (47:53:0.2, V/V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 280 nm. RESULTS: TLC identification methods of 3 materials had good specificities without interference from negative control. The linear range of baicalin were 0.14-1.40 μg ( $r=0.9997$ ) with an average recovery of 100.39% (RSD=2.76%,  $n=6$ ). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 2%. CONCLUSIONS: The methods can be used for the quality control of Beiqin xinke mixture.

**KEY WORDS** Beiqin xinke mixture; Quality standard; Baicalin; *Scutellariae baicalensis*; *Stemona Radix*; *Ephedrae Herba*; TLC; HPLC

贝芩新咳合剂是上海市中医医院院内制剂(沪药制字 Z05190744), 由黄芩、麻黄(蜜炙)、百部(蒸)、甘草等 7 味中药组成, 临床上用于治疗感冒咳嗽、咽痒及慢性支气管炎、咳嗽气急所致的有关脏器疾病。其君药黄芩味苦, 性寒, 归肺、胆、脾、胃、大肠、小肠经, 功能为清热燥湿、泻火解毒, 能止血、降血压, 用于治疗湿温、暑温所致胸闷呕恶、湿热痞满、泻痢、黄疸、肺热咳嗽、高热烦渴、血热吐衄、痈肿疮毒; 臣药麻黄功能为发汗散寒、宣肺平喘、行水消肿, 能散阴疽、消症结; 百部能

润肺、下气、止咳, 用于治疗新旧咳嗽、肺癆咳嗽、百日咳。为有效控制该制剂的质量, 笔者对其进行了定性与定量研究, 制定了该制剂中黄芩、麻黄、百部的薄层色谱(TLC)定性鉴别方法及黄芩中黄芩苷的高效液相色谱(HPLC)含量测定方法。

## 1 材料

### 1.1 仪器

1200 型 HPLC 仪(美国 Agilent 公司); AUW220D 型电子分析天平(日本岛津公司); B5500S-MT 型超声波发生器[必能

- 医, 1975(Z1):100.
- [10] 张心根. 山豆升草治疗肛门出血[J]. 中医杂志, 1978(2): 7.
- [11] 周铜水, 周荣汉. 榭藤根茎脂溶性成分的研究[J]. 中草药, 1994, 25(4): 175.
- [12] 陈封政, 向清祥, 李书华. 子遗植物桫欏叶化学成分的研究

- 究[J]. 西北植物学报, 2008, 28(6): 1246.
- [13] 赵峰, 王素娟, 吴秀丽, 等. 红大戟中的非萜醌类化学成分[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(14): 2092.
- [14] 冯卫生, 王彦志, 郑晓珂. 中药化学成分结构解析[M]. 北京: 科学出版社, 2008: 439.
- [15] 吴希, 夏厚林, 黄立华, 等. 香附化学成分研究[J]. 中药材, 2008, 31(7): 990.
- [16] 姚仲青, 郭青. 海州常山叶的化学成分研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(6): 103.

<sup>Δ</sup>上海市中医医院科研课题(No.057601)

\* 副主任药师。研究方向: 中药制剂与新药研发。电话: 021-56639828-4561。E-mail: metoglk@163.com

# 通信作者: 副主任药师。研究方向: 医院药学。电话: 021-65313557。E-mail: samyaoyao@163.com

(收稿日期: 2013-02-06 修回日期: 2013-06-08)

信超声(上海)有限公司,功率:120 W,频率:42 kHz]。

## 1.2 药品与试剂

贝琴新咳合剂(批号:20110606、20120502、20110705、20110723)与缺味黄芩、缺味麻黄、缺味百部的阴性样品均由上海市中医医院制剂室提供;黄芩苷、盐酸麻黄碱对照品与百部对照药材(中国食品药品检定研究院,批号分别为110715-201117、171241-200303、121221-200402);硅胶G(青岛海洋化工厂);甲醇为色谱纯,水为蒸馏水,其他试剂均为分析纯。

## 2 定性鉴别

### 2.1 黄芩的TLC鉴别

取样品50 ml,加盐酸调节pH值至1~2,用乙酸乙酯振荡提取2次,每次20 ml,合并提取液,用水洗涤3次,每次20 ml,弃去水液,乙酸乙酯液蒸干,残渣加甲醇1 ml使溶解,作为供试品溶液。另取缺味黄芩阴性样品,同法制成阴性对照溶液。再取黄芩苷对照品,加甲醇制成每1 ml含1 mg的溶液,作为对照品溶液。照TLC法<sup>[1]</sup>试验,吸取上述3种溶液各2  $\mu$ l,分别点于同一硅胶G薄层板上,以醋酸乙酯-丁酮-甲醇-水(5:3:1:1, V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以1%(g/ml)三氯化铁乙醇溶液,日光下检视。结果,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;阴性对照无干扰。黄芩的TLC图见图1。

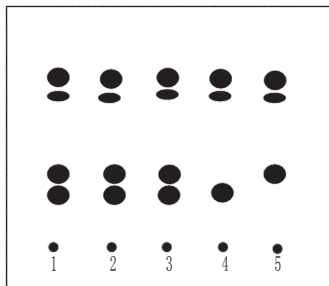


图1 黄芩的TLC图

1~3.样品;4.黄芩苷对照品;5.阴性对照

Fig 1 TLC of *Scutellaria baicalensis*

1-3. samples; 4. baicalin control; 5. negative control

### 2.2 百部的TLC鉴别

取样品40 ml,加中性氧化铝搅拌至略干,加80%(V/V)乙醇40 ml,超声处理20 min,滤过,滤液用盐酸调pH值至2~3,用氯仿20 ml振荡提取,氯仿液弃去,水液用浓氨溶液调节pH值至10~11,用氯仿50 ml振荡提取,氯仿液浓缩至约1 ml,作为供试品溶液。另取缺味百部阴性样品,同法制成阴性对照溶液。再取百部对照药材1 g,加80%(V/V)乙醇40 ml,同法制成对照药材溶液。照TLC法<sup>[1]</sup>试验,吸取上述3种溶液各4  $\mu$ l,分别点于同一硅胶G薄层板上,以氯仿-丙酮-甲醇(7:2:1, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以改良碘化铋钾试液,日光下检视。结果,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点;阴性对照无干扰。百部的TLC图见图2。

### 2.3 麻黄的TLC鉴别

取样品50 ml,加氢氧化钠试液调pH值至11~12,用氯仿萃取2次,每次20 ml,合并萃取液,蒸干,残渣加2 ml甲醇使溶解,作为供试品溶液。另取缺味麻黄阴性样品,同法制成阴性

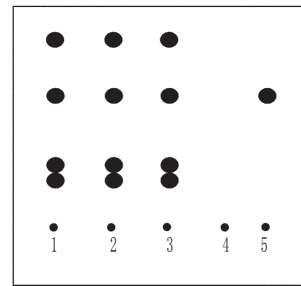


图2 百部的TLC图

1~3.样品;4.阴性对照;5.百部对照药材

Fig 2 TLC of *Stemonae Radix*

1-3. samples; 4. negative control; 5. *Stemonae Radix* reference substance 对照溶液。再取盐酸麻黄碱对照品,加甲醇制成每1 ml含1 mg的溶液,作为对照品溶液。照TLC法<sup>[1]</sup>试验,吸取上述3种溶液各5  $\mu$ l,分别点于同一硅胶G薄层板上,以醋酸乙酯-甲醇-丙酮-浓氨试液(10:1:0.5:0.5, V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以茚三酮试液,于105  $^{\circ}$ C加热至斑点显色清晰,日光下检视。结果,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同的红色斑点;阴性对照无干扰。麻黄的TLC图见图3。

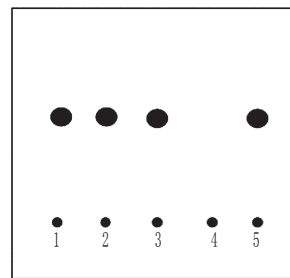


图3 麻黄的TLC图

1~3.样品;4.阴性对照;5.盐酸麻黄碱对照品

Fig 3 TLC of *Ephedrae Herba*

1-3. samples; 4. negative control; 5. pseudoephedrine hydrochloride control

## 3 黄芩苷定量分析

### 3.1 色谱条件

色谱柱:Diamonsil C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5  $\mu$ m);流动相:甲醇-水-磷酸(47:53:0.2, V/V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:280 nm;进样量:5  $\mu$ l。

### 3.2 供试品溶液的制备

精密量取贝琴新咳合剂1 ml,置于50 ml量瓶中,加入70%(V/V)乙醇至近刻度,放入超声波发生器中提取30 min,取出,冷至室温,加70%(V/V)乙醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,微孔滤膜(0.45  $\mu$ m)滤过,即得供试品溶液。

### 3.3 对照品溶液的制备

精密称定黄芩苷对照品3.50 mg,置于25 ml量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得每1 ml含黄芩苷0.14 mg的对照品贮备液。精密吸取该贮备液2 ml,置于10 ml量瓶中,加甲醇稀释至刻度,得每1 ml含黄芩苷0.028 mg的对照品溶液。

### 3.4 专属性考察

按处方比例和工艺制成不含黄芩的空白样品,再按“3.2”项下方法制备阴性对照溶液。取供试品溶液、对照品溶液与阴性对照溶液各适量,按上述色谱条件进样测定,记录色谱图。结果表明,处方中其他药材和辅料不干扰黄芩苷的含量测定。色谱见图4。

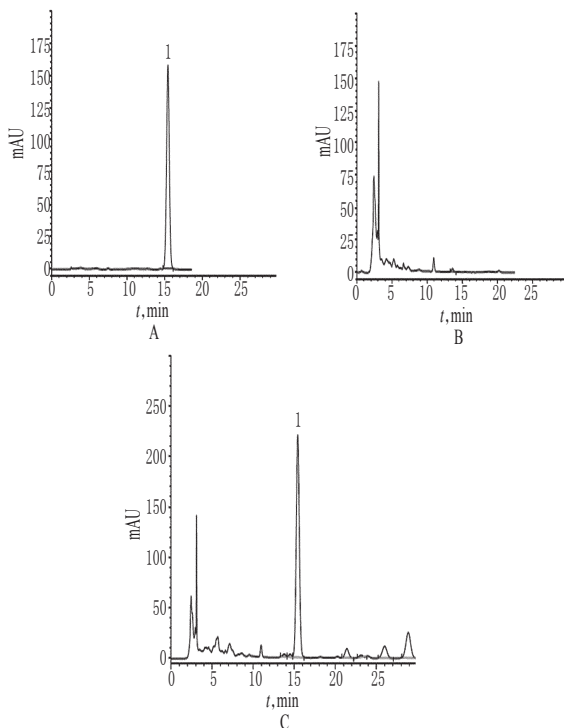


图4 高效液相色谱图

A. 黄芩苷对照品; B. 阴性对照; C. 供试品; 1. 黄芩苷

Fig 4 HPLC chromatograms

A. baicalin control; B. negative control; C. test sample; 1. baicalin

### 3.5 标准曲线的制备

精密吸取质量浓度为0.14 mg/ml的对照品贮备液3.0、5.0、7.5、10.0  $\mu$ l和0.028 mg/ml的对照品溶液5.0  $\mu$ l,注入液相色谱仪中,按上述色谱条件测定,记录峰面积。以进样量(x)为横坐标,峰面积积分值(y)为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程为 $y=938.04x-575.44$  ( $r=0.9997, n=5$ )。结果表明,黄芩苷的进样量在0.14~1.40  $\mu$ g范围内与其峰面积积分值呈良好的线性关系。

### 3.6 精密度试验

精密吸取对照品贮备液(0.14 mg/ml)5  $\mu$ l,按上述色谱条件连续进样测定5次,记录峰面积。结果,  $RSD=0.71\%$  ( $n=5$ ),表明仪器精密度良好。

### 3.7 稳定性试验

取同一份供试品溶液(批号:20120502),分别于0、2、4 h按上述色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,  $RSD=1.79\%$  ( $n=3$ ),表明供试品液在4 h内稳定。

### 3.8 重复性试验

精密量取同一批样品(批号:20110606)1.0 ml,共6份,分别按“3.2”项下方法制备供试品溶液,照上述色谱条件进样测定,记录峰面积,计算样品中黄芩苷的含量。结果,黄芩苷的平均质量浓度为6.30 mg/ml,  $RSD=1.94\%$  ( $n=6$ ),表明本方法重复性良好。

### 3.9 加样回收率试验

取已知含量的同一批样品(批号:20110606)6份,每份0.5 ml,分别加入质量浓度为0.657 mg/ml的黄芩苷对照品溶液5 ml,按“3.2”项下方法制备供试品溶液,照上述色谱条件进样测定,记录峰面积,计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果( $n=6$ )

Tab 1 Result of recovery tests( $n=6$ )

样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	$\bar{x}$ ,%	RSD,%
3.15	3.285	6.311	96.24		
3.15	3.285	6.463	100.85		
3.15	3.285	6.459	100.72	100.39	2.76
3.15	3.285	6.513	102.38		
3.15	3.285	6.378	98.26		
3.15	3.285	6.563	103.89		

### 3.10 样品含量测定

取4批样品(批号:20110606、20120502、20110705、20110723)各适量,分别按“3.2”项下方法制备供试品溶液。分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各适量,按上述色谱条件进样测定,记录峰面积,用外标峰面积法计算样品中黄芩苷的含量,每批操作3次,取平均值,结果见表2。

表2 样品含量测定结果( $n=3$ )

Tab 2 Results of content determination of samples( $n=3$ )

批号	黄芩苷质量浓度,mg/ml
20110606	6.30
20120502	9.05
20110705	9.54
20110723	10.12

## 4 讨论

从文献报道<sup>[2-4]</sup>来看,黄芩苷与本复方的功效相关,因此选用黄芩苷作为本复方的含量测定指标。采用本试验建立的HPLC法测定方中黄芩苷的含量,不受复方中其他成分的干扰,被测物质与各杂质的色谱峰分离良好、专属性强,精密性、回收率、重复性、稳定性均符合相关要求,因此可用于贝芩新咳合剂的质量控制。从4批成品的质量浓度来看,批号为20110606的样品质量浓度低于其他批次样品,这可能与投料药材有关,相关药材和成品的黄芩苷含量限度的制定尚需进一步积累数据。

## 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 附录34.
- [2] 何心, 石春伟, 李欣, 等. 双黄连粉针中黄芩苷的药动学[J]. 中国新药杂志, 1998, 7(2): 146.
- [3] 王洪杰, 冯宇飞, 刘佩莉, 等. HPLC法测定生物样品中双黄连有效成分黄芩苷的含量[J]. 黑龙江中医药, 2008, 3(3): 53.
- [4] 史宏妍, 潘成学. HPLC法同时测定小儿热速清颗粒中绿原酸和黄芩苷的含量[J]. 中国药房, 2012, 23(16): 1531.

(收稿日期:2013-04-01 修回日期:2013-06-24)