

# 止咳立效片进行指纹图谱的研究

刘朋杉 杨丽 高峰 刘灵芝

药都制药集团股份有限公司

**[摘要]**目前,企业对止咳立效片的检验方式有两种:以薄层色谱法将其供试品溶液与罂粟壳、甘草、麻黄、葶苈子、莱菔子对照药材溶液进行比较,以定性判断是否含有相应药材。或高效液相色谱法(HPLC)检测其中所含苦杏仁苷、盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱的量,用含量是否符合药典规定为标准对其进行质量评价。而中药的药效往往是多种成分联合发挥疗效,现行质量控制指标虽可对该药进行针对性质量评价,但不能很好地从整体的层面对该药进行综合全面的分析。

**[关键词]**止咳立效片;指纹图谱;高效液相色谱法

**[DOI]** 10.12252/j.issn.2096-6261.2021.10.1853

止咳立效片是通过汉代名方《麻杏石甘汤》增减而成的国家保护中药品种,主要有止咳、定喘、祛痰等作用,可用于治疗风寒咳嗽,喘急气促。止咳立效方中以麻黄宣肺平喘为君药。石膏清肃肺热。并制麻黄宣肺而不助热为臣药:苦杏仁降肺气,同麻黄一宣一降,以增强平喘止咳之效:罂粟壳敛肺止咳;葶苈子、莱菔子清降肺气而平喘,共为佐药。甘草化痰止咳,并调和诸药,为使药。全方配伍。共奏止咳、定喘、祛痰之功。<sup>[1]</sup>

研究本课题的目的在于:旨在建立止咳立效片的 HPLC 指纹图谱,丰富企业内控标准,为更全面控制该药质量提供科学依据。目前,有关止咳立效片的研究较少,只对部分成分定量分析中药指纹图谱在一定条件下能基本反映所含成分的全貌,较好地体现成分的复杂性和相关性,比单一成分或指标性成分的质量控制方法,更加具有科学性和全面性。

## 一、材料、仪器与试剂

高效液相色谱仪(LC-2010A、1200、1260、e2695)6台,摄影显微镜(OLYMPUS BX41)4台、分析天平8台、马弗炉、干燥箱等。

### (一) 材料

止咳立效片10批与麻黄、苦杏仁、石膏、甘草、葶苈子、罂粟壳、莱菔子等饮片。

### (二) 仪器

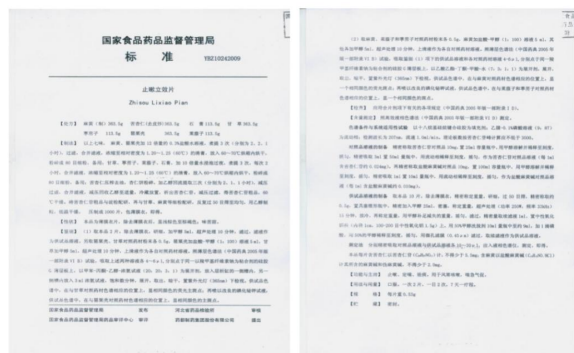
高效液相色谱仪:waters Hdass;检测仪紫外VWD;工作站:Empower。

### (三) 试剂,试剂

流动相所用的试剂为色谱纯,其他试剂、试剂均为分析纯。

## 二、标准情况

止咳立效片现收载于《国家食品药品监督管理局标准》YBZ10242009<sup>[2]</sup>。



## 三、样品收集

### (一) 麻黄

麻黄有三个来源<sup>[3]</sup>始载于《神农本草经》目前,我国的麻黄基本上还是野生,除了山西、内蒙古、河北、陕西生产较早,尚有新疆、甘肃、青海、西藏等辽阔的疆域资源可供

开发。收集产地内蒙、张家口、新疆等10批,结果:10批产地麻黄药材指纹图谱有17个共有峰,峰面积之和大于总峰面积的90%。<sup>[4]</sup>对各产地的药材进行了相似度比较,建立了麻黄药材的高效液相指纹图谱。本实验采用了高效液相法对麻黄药材进行分析,各样品高效液相指纹图谱虽存在一定差异,但均具有相同的色谱特征峰。<sup>[4]</sup>综合考虑,固定货源为张家口木贼麻黄。

### (二) 苦杏仁

苦杏仁来源有四个,杏分布于除广东、海南等热带地区外的全国各地,多为栽培。山杏分布于东北、华北和甘肃等地。西伯利亚杏分布于黑龙江、吉林、辽宁、内蒙古东部、甘肃、河北、山西等地。东北杏分布于吉林、辽宁等地。这些地区均适宜其相应品种的生长,尤以内蒙古东部、吉林、辽宁、河北、山西、陕西等省最为适宜。以内蒙古、吉林、辽宁、河北、陕西产量最大。<sup>[4]</sup>

不同产地的苦杏仁油在含量、脂肪酸组成以及VE含量方面均有较大的差异。灵台、庆阳与麟游、镇原、方山与隰县、安塞与华池之间的气候差异较小,但是油含量、脂肪酸含量以及VE含量与气候条件的相似性并不一致。<sup>[5]</sup>

内蒙古的苦杏仁,苦杏仁苷含量最高,它的含量达5.19%,甘肃次之,它的苦杏仁苷含量为4.88%,山西最小,它的苦杏仁苷含量为3.84%。<sup>[6]</sup>内蒙古的苦杏仁是西伯利亚杏,<sup>[7]</sup>苦杏仁的有效成分不能确定,检测确切产地样品10个,参考中国药典2020版一部检测的苦杏仁苷,把货源定为承德产的西伯利亚杏。

### (三) 石膏

中国石膏矿资源丰富。主要石膏矿区有山东枣庄底阁镇,内蒙古鄂托克旗、湖北应城市、山西太原等。因石膏无液相含量情况<sup>[3]</sup>,指纹图谱不建议考虑,样品产地山东、湖北、山西、安徽等共10批,从性状和检测结果看货源最后定为山东。

### (四) 甘草

甘草来源3种。<sup>[3]</sup>甘草主产于内蒙古、甘肃、宁夏、新疆,以内蒙伊盟的杭锦旗、阿拉善盟阿拉善旗及甘肃、宁夏所产品质最佳。胀果甘草主产于新疆喀什、阿拉苏、甘肃、内蒙古、陕北等地。光果甘草主产于新疆塔城等地。<sup>[4]</sup>不同地区生长的甘草中甘草苷含量差异较大,在0.5%~3.5%之间。其中以甘肃民勤野生乌拉尔红皮原草甘草苷含量最高,约为3.5%;当地家种3年甘草中,甘草苷含量也达1.7%。内蒙甘草、胀果甘草次之。甘草的生长环境与生长期对甘草苷的影响较大。<sup>[8]</sup>

一年生甘肃民勤栽培乌拉尔甘草的产量最高,其次是内蒙古杭锦旗乌拉尔甘草,民勤野生乌拉尔甘草的干重最低,仅为栽培甘草的80%多;甘草酸含量也是甘肃民勤栽培乌拉尔甘草的最高,达到1.79%;甘草苷含量则是民勤野生乌拉尔甘草最高,为0.8%多。甘肃民勤栽培乌拉尔甘草产量和甘草酸含量较高。<sup>[9]</sup>甘草甘肃、内蒙、新疆等样品10批,经检验和

资料情况，确定货源为甘肃栽培乌拉尔甘草。

(五) 葶苈子

葶苈子，中国药典2020版一部收载了2种<sup>[3]</sup>。独行菜分布于我国东北、华北、江苏、浙江、安徽以及西北、西南等地。河北沧县、保定、承德，辽宁海城、凤城及内蒙古等地适宜其生产，尤以河北沧县最为适宜。播娘蒿分布于我国除华南以外的绝大部分地区。江苏邳州、淮阴、南通，安徽滁州，以及山东聊城等地均适宜其生产，尤以江苏邳州最为适宜。南葶苈子与北葶苈子的HPLC图谱存在较大的区别，<sup>[10]</sup>各厂家投料无法确定，止咳立效片特征图谱排除葶苈子。我厂固定的货源是河南产南葶苈子。

(六) 罂粟科植物

罂粟Papaver somniferum L.的干燥成熟果壳。主要成分是吗啡、可待因和罂粟碱。<sup>[3]</sup>只有一个供货商国药控股河北医药有限公司，产地固定甘肃。

(七) 莱菔子

莱菔子，十字花科植物萝卜Raphanus sativus L.的干燥成熟种子。<sup>[3]</sup>来源单一，常见。从性状黄棕色、红棕色或灰棕色就能发现会有许多颜色。收集样品10批，产地甘肃；云南；河北；山西等。甘肃红棕色；云南的鲜亮红棕色；河北和山西等为灰棕色、饱满，化验后发现只有灰棕色的样品多不合格，甘肃的最稳定。故货源为甘肃。

可抽取的批号共19批，2018片8批；2019年9批和2020年2批。止咳立效片根据药材批号，排除同批药粉综合考虑后确认样品。止咳立效片样品为180101、180401、180601、181202、190501、190601、190901、191002、191101、200202。

四、特征图谱研究

因止咳立效片中有7个样品中的性质差异较大，想达到良好的分离目的，缩短分析周期首先梯度洗脱法。此法改善峰型、少拖尾等。参照止咳立效片检测方法，经过长达1年实验，修订检测波长、流动相，柱温等，得出结论：色谱条件对含量测定结果的准确性起决定性作用。

特征图谱具体检测方法如下：

【含量测定】照高效液相色谱法（通则0512）测定。

色谱柱：Agilent 5 TC-C18 (2) (250×4.6mm)；流动相：乙腈(A)，0.05%磷酸溶液(B)，梯度洗脱程序(表1)，检测波长：210nm，柱温：40℃，流速：1ml/min，进样量5μl。

时间	乙腈(A)	0.05%磷酸(B)
0	1.5	98.5
15	1.5	98.5
27	1.5	90
30	13	87
35	13	87
40	20	80
54	20	80
60	30	70
65	30	70
70	40	60
72	40	60
74	1.5	98.5
84	1.5	98.5

表1

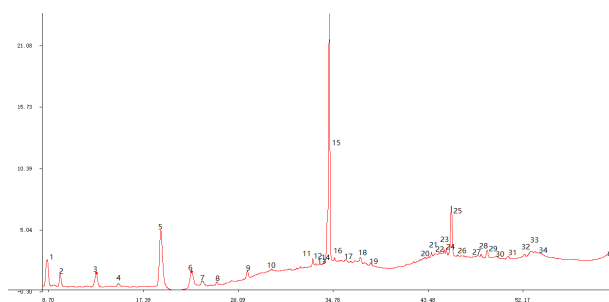
对照品的制备：取对照品适量(表2)，精密称定，置于100ml棕色容量瓶中，加入含0.3%醋酸的甲醇溶解，定容置刻度。

对照品	吗啡	盐酸麻黄碱	盐酸伪麻黄碱	苦杏仁苷	芥子碱	甘草苷
取样量(g)	0.8013	2.8125	1.069	5.89	0.2017	0.6519

表2

样品溶液的制备：取样品10片，去薄膜衣，研磨，过100目筛，精密称取0.5g，置锥形瓶中，精密加50%甲醇25ml，密塞，称定重量，超声30min，放冷，再称定重量，用50%甲醇补足重量，摇匀，过滤，精密量取续滤液1ml，置中性氧化铝柱(内径1cm，100-200目中性氧化铝1.5g)上，用70%甲醇洗

脱到10ml容量瓶中，定容，摇匀，用微孔滤膜(0.45um)滤过，取续滤液作为供试品溶液。



止咳立效片样品对照特征图谱

1号峰为吗啡，5号峰为麻黄碱，6号峰为伪麻黄碱，15号峰为苦杏仁，16号峰为芥子碱硫酸盐，25号峰为甘草苷。

规定：供试品应呈现与“止咳立效片样品对照特征图谱”相同的特征图谱

五、验证

经综合化实验室复核，方法专属性、重现性、耐用性较好。

六、讨论

国家药品标准仅仅是中药需要满足的最低标准，可以依据其判断真伪，但往往难以衡量产品优劣。指纹图谱是中成药品种相同的处方、制法研制，其色谱情况与实际样品更加一致，是衡量中成药原料药材的投料的真伪、优劣及投料多少的客观依据，在不久的将来指纹图谱将会普遍应用于国家标准中。

参考文献

[1] 国家药典委员会 编 中华人民共和国药典《临床用药须知》中药成方制剂卷2015年版 中国医药科技出版社.北京.2017年9月第1版, P329

[2] 《国家食品药品监督管理局标准》YBZ10242009

[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典2020年版一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020年5月.

[4] 彭成. 中华道地药材(中)[M]. 中国中医药出版社, 2011.

[5] 马玉花, 赵忠, 李科友, 等. 不同产地苦杏仁油的含量及成分分析[J]. 中国粮油学报, 2009年11月第24卷第11期, P70-73

[6] 葛任新, 李月娥, 陈宗文. 不同产地苦杏仁中苦杏仁苷含量比较研究[J]. 国际医药卫生导报, 2011年第17卷第22期, P2791-2795

[7] 段国珍, 白淑兰, 叶冬梅, 等. 内蒙古不同种源山杏仁中苦杏仁苷含量差异分析[J]. 食品工业科技, 2017年04期, P111-115

[8] 郭伟芳, 潘书洋, 王振辉, 等. 高效液相色谱法测定不同产地甘草中甘草苷的含量[J]. 中国卫生工程学, 2011, 10(1), 62-64

[9] 张志梅, 李召虎, 李光甫, 等. 不同来源乌拉尔甘草产量和有效成分含量比较[J]. 中国现代中药, 2009, 11(5), 14-16

[10] 王爱芹, 王秀坤, 李军林, 等. 南葶苈子HPLC指纹图谱的测定[J]. 中药材, 2005, 28(4), 285-287

作者简介:  
刘朋杉(1987-), 女, 助理工程师, 研究方向为中药质量研究。  
通讯作者: 刘灵芝(1981-), 女, 工程师, 研究方向为中药鉴定, 中药质量研究。