

牛黄清胃丸中麦冬掺伪情况研究

王峰, 何轶, 于健东, 戴忠*, 马双成* (中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘要:目的 建立牛黄清胃丸中掺伪品山麦冬的测定方法,以了解该制剂中麦冬掺伪情况。方法 采用液相色谱-串联电喷雾三重四级杆质谱(HPLC-MS-MS)法,多反应监测模式(MRM)对牛黄清胃丸中的山麦冬皂苷 B 和短葶山麦冬皂苷 C 进行分析。结果 18 个批次牛黄清胃丸中 15 个批次均可检出山麦冬特征成分山麦冬皂苷 B 或短葶山麦冬皂苷 C,含量为 0.10 ~ 1.19 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。结论 制剂中存在麦冬和山麦冬的混用情况。

关键词:牛黄清胃丸;麦冬;山麦冬;液质联用

doi:10.11669/cpj.2019.16.011 中图分类号:R917 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2019)16-1332-04

Adulteration Situation of Ophiopogonis Radix in Niu Huang Qingwei Pills

WANG Feng, HE Yi, YU Jian-dong, DAI Zhong*, MA Shuang-cheng* (National Institute for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the detection method of Liriopes Radix in Niu Huang Qingwei pills to uncover the adulteration situation of Ophiopogonis Radix in Niu Huang Qingwei pills. **METHODS** Liriopesides B and lirioposides C in Niu Huang Qingwei pills were analyzed by HPLC-MS-MS in MRM mode. **RESULTS** In the 18 batches of Niu Huang Qingwei pills, liriopesides B and lirioposides C, the index compounds of Liriopes Radix, were detected in 15 batches of samples in the concentrations of 0.10 - 1.19 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$. **CONCLUSION** The adulteration of Ophiopogonis Radix with Liriopes Radix should be paid more attention to.

KEY WORDS: Niu Huang Qingwei pills; Ophiopogonis Radix; Liriopes Radix; HPLC-MS/MS

牛黄清胃丸是常用中成药,收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂(第一册)WS₃-B-0038-89,系由人工牛黄、大黄、菊花、麦冬、薄荷、石膏、冰片等 17 味药材制成。功能清胃泻火,润燥通便。临床用于心胃火盛,头晕目眩,口舌生疮,牙龈肿痛,乳蛾咽痛,便秘尿赤等。方中麦冬功能清心热养胃阴,是该制剂中的一个重要组成药味。麦冬始载于《神农本草经》,以后历代本草中都有记载,但来源多样,为百合科沿阶草属及山麦冬属多种植物的块根^[1]。《中国药典》自 1963 年版开始收载麦冬,为百合科植物麦冬 [*Ophiopogon japonicus* (L. f) Ker-Gaw L.] 的干燥块根^[2],1995 年版《中国药典》将百合科植物湖北麦冬 [*Liriope spicata* (Thunb.) Lour. var. *prolifera* Y. T. Ma] 或短葶山麦冬 [*Liriope muscari* (Decne.) Bailly] 的干燥块根单独收载为山麦冬^[3],与麦冬相区别。虽然麦冬和山麦冬性状相近,疗效类似,但已属于两个不同的药味,在药品生产中应严格按照配方投料,不可混用。

由于山麦冬产量大、价格低、形态相近。有部分厂家会使用山麦冬代替麦冬或混入麦冬投料生产中成药。根据文献[4-5]记载,山麦冬皂苷 B 和短葶山麦冬皂苷 C 分别为湖北麦冬和短葶山麦冬的特征性成分,可通过测定中成药中的上述成分,了解山麦冬药材的投料情况。本实验建立了牛黄清胃丸中山麦冬皂苷 B 和短葶山麦冬皂苷 C 的 HPLC-MS/MS 检查方法,并对不同厂家的 18 批样品进行了分析^[6-10]。

1 仪器与试剂

Agilent 1260-6410B 液相色谱-质谱联用系统,安捷伦 Mass Hunter 化学工作站(安捷伦公司);Mettler XS105DU 电子天平;KQ-300DA 型数控超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司,超声功率 300 W,频率 40 kHz);乙腈为色谱纯,乙酸铵、甲醇为分析纯,水为 Milli-Q 系统制备。

山麦冬皂苷 B (批号 111907-201102,纯度

作者简介:王峰,男,主管药师 研究方向:中药质量研究 * 通讯作者:戴忠,男,研究员 研究方向:中药质量控制 Tel:(010) 67095150 E-mail:daizhong@nifdc.org.cn; 马双成,男,研究员 研究方向:中药质量控制 Tel:(010)67095272 E-mail:masc@nifdc.org.cn

98.6%)、短葶山麦冬皂苷 C (批号 111908-201102, 纯度 99.5%) 对照品(中国食品药品检定研究院); 牛黄清胃丸共 18 批(规格为每丸重 6 g), 均为市售样品。

2 方法与结果

2.1 测定条件

2.1.1 色谱条件 采用 Agilent Zorbax Eclipse Plus (2.1 mm × 50 mm, 1.8 μm), 流动相: A 为乙腈, B 为 10 mmol · L⁻¹ 乙酸铵, 梯度洗脱, 0→30 min, A 从 25%→60%; 30→40 min, A 保持 60%; 40→41 min, A 从 60%→25%; 流速 0.2 mL · min⁻¹, 进样量 1 μL。

2.1.2 质谱条件 采用电喷雾离子源(ESI), 正负离子扫描, 多反应监测模式(MRM), 干燥气温度 350 °C, 干燥气流速 9 L · min⁻¹, 雾化气压力 0.2 MPa, 源电压 4 kV。山麦冬皂苷 D 和短葶山麦冬皂苷 C 裂解电压及碰撞能量等质谱参数见表 1, MRM 图谱见图 1。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 山麦冬皂苷 B、短葶山麦冬皂苷 C 对照品适量, 分别用甲醇制成每 1 mL 各含 10 mg · mL⁻¹ 左右的溶液, 即得。

2.2.2 供试品溶液 精密称取样品约 6 g, 精密加入 2 倍量硅藻土研匀, 精密称取约 3.6 g 至具塞锥形瓶中, 精密加入 25 mL 甲醇, 称重, 超声处理 30 min, 放冷, 用甲醇补足重量, 混匀, 静置取上清液, 用 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 即得。

2.3 方法学研究

2.3.1 线性关系考察 取山麦冬皂苷 B、短葶山麦冬皂苷 C 对照品溶液, 用甲醇稀释成每 1 mL 含山

麦冬皂苷 B 为 2.26、1.13、0.56、0.28、0.14、0.07 μg, 含短葶山麦冬皂苷 C 为 3.34、1.67、0.84、0.42、0.21、0.10 μg 的系列混合溶液, 分别进样 1 μL, 记录峰面积。以待测成分质量浓度(ρ)为横坐标, 峰面积(Y)为纵坐标绘制标准曲线并进行线性回归。短葶山麦冬皂苷 C、山麦冬皂苷 B 和牛黄清胃丸样品选择离子流图见图 2, 短葶山麦冬皂苷 C、山麦冬皂苷 B 的线性实验结果见表 2。

2.3.2 检测限和定量限 取“2.2.1”项下混合对照品溶液稀释至不同浓度, 进样测定, 以信噪比 3:1 为检测限, 信噪比 10:1 为定量限。山麦冬皂苷 B 和短葶山麦冬皂苷 C 的检测限分别为 0.009 和 0.013 μg · mL⁻¹; 定量限分别为 0.035 和 0.026 μg · mL⁻¹。

2.3.3 精密度实验 取每 1 mL 含山麦冬皂苷 B 为 4.52 μg、含短葶山麦冬皂苷 C 为 3.34 μg 的混合对照品溶液, 连续进样 5 次, 结果上述山麦冬皂苷 B 的峰面积 RSD 为 1.63%, 短葶山麦冬皂苷 C 的峰面积 RSD 为 2.46%, 表明精密度良好。

2.3.4 重复性实验 分别精密称取批号 20151102 和批号 170301 样品各 6 g, 按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液各 5 份, 进样测定。计算得山麦冬皂苷 B 平均含量为 4.32 μg · g⁻¹, RSD 为 2.57%; 计算得短葶山麦冬皂苷 C 平均含量为 18.63 μg · g⁻¹, RSD 为 1.79%, 表明方法重复性良好。

2.3.5 稳定性实验 取每 1 mL 含山麦冬皂苷 B 为 4.52 μg、含短葶山麦冬皂苷 C 为 3.34 μg 的混合溶液, 分别于 0、24、48、72 h 进样 4 次, 结果上述山麦冬皂苷 B 峰面积 RSD 为 3.81%, 短葶山麦冬皂苷 C 峰面积 RSD 为 3.44%, 表明稳定性良好。

表 1 山麦冬皂苷 B 和短葶山麦冬皂苷 C 色谱及质谱测定参数

Tab. 1 The chromatographic and mass spectral parameters of liriopesides B and liriopie muscari baily saponins C

Component	Retention time/min	Prec ion(m/z)	Prod ion(m/z)	Frag/V	CE/eV	Polarity
Liriopesides B	22.5	723	251.2	135	25	+
Liriopie muscari baily saponins C	20.5	929	869.6	135	25	-

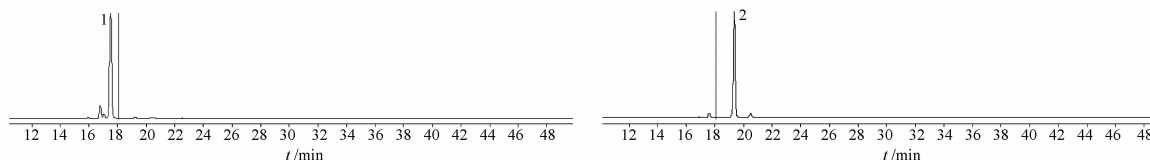


图 1 短葶山麦冬皂苷 C 和山麦冬皂苷 B 对照品的 HPLC-MS 色谱图

1 - 短葶山麦冬皂苷 C; 2 - 山麦冬皂苷 B

Fig. 1 HPLC-MS Chromatograms of liriopie muscari baily saponins C and liriopesides B

1 - liriopie muscari baily saponins C; 2 - liriopesides B

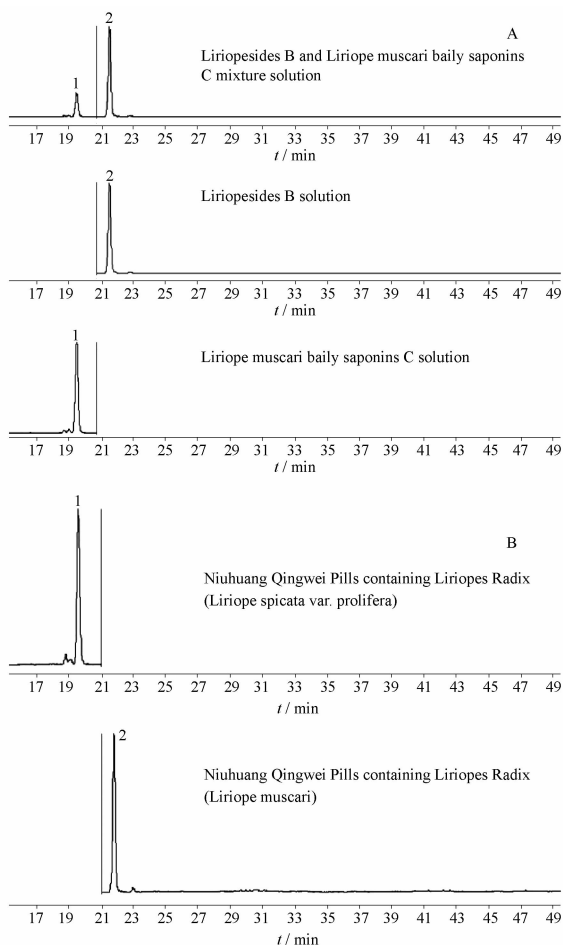


图2 对照品(A)和牛黄清胃丸样品(B)的HPLC-MS/MS色谱图

1 - 短葶山麦冬皂苷 C; 2 - 山麦冬皂苷 B

Fig. 2 HPLC-MS/MS Chromatograms of reference substances (A) and Niu Huang Qingwei Pills sample (B)

1 - liriopemuscari baily saponins C; 2 - liriopesides B

表2 山麦冬皂苷 B 和短葶山麦冬皂苷 C 的线性范围、回归方程

Tab. 2 Linear ranges and regression equations of liriopesides B and liriopemuscari baily saponins C

Component	Linear range $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	Regression equation	r
Liriopesides B	0.07 - 2.26	$y = 1460.4x + 47.652$	0.999 6
Liriope muscari baily saponins C	0.10 - 3.34	$y = 646.31x + 2.979 9$	0.999 9

2.3.6 回收率实验 精密称取“2.3.4”项下已知山麦冬皂苷 B 含量(批号 20151102)和短葶山麦冬皂苷 C 含量(批号 170301)样品各 10 g,精密加 2 倍量硅藻土研匀,精密称取 3.6 g 至具塞锥形瓶中,共 6 份,分别精密加入每 1 mL 含山麦冬皂苷 B 为 $9.04 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液 $10 \mu\text{L}$,每 1 mL 含短葶山麦冬皂苷 C 为 $6.68 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品

溶液 $30 \mu\text{L}$,再精密加入 25 mL 甲醇,称重,超声处理 30 min,放冷,用甲醇补足重量,混匀,静置取上清液,用 $0.22 \mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤,进样测定。结果见表 3。

2.4 样品测定

18 批牛黄清胃丸,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,进样测定。15 批样品中检出山麦冬特征性成分,其中 9 批检出湖北麦冬的特征性成分,6 批样品检出短葶山麦冬的特征性成分。检出山麦冬的 15 批样品,以外标单点法计算含量,结果见表 4。其余样品未检出山麦冬的特征性成分。

表3 短葶山麦冬皂苷 C、山麦冬皂苷 B 回收率实验结果

Tab. 3 The results of recovery test of liriopesides B and liriopemuscari baily saponins C

Component	$m(\text{Added})$ μg	$m(\text{Found})$ μg	Recovery /%	Average recovery/%	RSD /%
Liriopesides B	9.04	14.13	97.63	92.80	4.82
	9.04	13.06	88.19		
	9.04	14.39	99.17		
	9.04	13.23	90.14		
	9.04	13.34	90.72		
	9.04	13.35	90.96		
Liriope muscari baily saponins C	20.04	40.84	95.62	95.73	4.13
	20.04	43.08	100.93		
	20.04	40.34	93.15		
	20.04	39.91	92.10		
	20.04	40.61	92.39		
	20.04	44.71	100.19		

表4 牛黄清胃丸中短葶山麦冬皂苷 C、山麦冬皂苷 B 含量测定结果。n = 2

Tab. 4 Content determination results of liriopesides B and liriopemuscari baily saponins C in Niu Huang Qingwei pills. n = 2

No.	Component	Content $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$
1	Liriopesides B	0.26
2	Liriopesides B	0.18
3	Liriope muscari baily saponins C	1.19
4	Liriopesides B	0.39
5	Liriopesides B	0.14
6	Liriopesides B	0.10
7	Liriope muscari baily saponins C	0.18
8	Liriopesides B	0.17
9	Liriope muscari baily saponins C	1.03
10	Liriope muscari baily saponins C	0.41
11	Liriopesides B	0.24
12	Liriopesides B	0.44
13	Liriopesides B	0.29
14	Liriopesides B	1.09
15	Liriope muscari baily saponins C	0.90

3 讨论

3.1 检测方法的选择

牛黄清胃丸处方中共 17 味中药,麦冬在处方中所占比例为 1.26%,本实验曾尝试采用 TLC 及 HPLC-ELSD 进行检测,但方法灵敏度难以满足分析要求。HPLC-MS/MS 专属性强,灵敏度高,可以简化样品的前处理过程,提高检测准确性。在中药检测中具有良好的应用前景,故选择此方法进行测定。

3.2 关于麦冬类药材混用的问题

尽管《中国药典》1963 年版规定麦冬为百合科植物麦冬的干燥块根,但山麦冬属的植物块根依然在很多地区作为麦冬使用。如山麦冬之一的湖北麦冬就是在 60 年代在湖北襄阳开始种植,并作为麦冬的生产基地,曾经年产 1 万 9 千多吨。迄今湖北的山麦冬年产量近 1 万吨,占全国麦冬类药材产量的 50%^[11]。此次对 18 个批次的牛黄清胃丸进行分析,15 批样品检出山麦冬特征性成分。《中国药典》2015 年版成方制剂中使用麦冬的 91 种(125 个)制剂,而使用山麦冬的制剂只有 2 种(3 个)。按此比例,麦冬在制剂中的使用量要远远超过对山麦冬的需求,所以存在山麦冬掺伪麦冬的实际可能。

对于麦冬和山麦冬如何评价,已经有报道通过测定麦冬类药材中甾体皂苷、高异黄酮、氨基酸与核苷类共 33 种指标成分,并结合多元统计分析对麦冬类商品药材进行比较分析^[12]。为麦冬类药材的综合评价提供了方法借鉴。虽然山麦冬和麦冬在药典中收录的功能主治完全一致,但药品生产应严格遵守法律法规的规定,对于目前中成药中存在的二者混用的情况,除应技术监督外,同时还应做开展麦冬类药材功能主治的评估工作,在保证药品供应的前

提下,科学解决山麦冬的混用现象。

REFERENCES

- [1] GONG Y, ZHANG J, XIANG Z, et al. Textual research of Chinese herb Maidong [J]. *China Pharm* (中国药师), 2017, 20(2):229-231.
- [2] *Ch. P* (1963) Vol I (中国药典 1963 年版. 一部) [S]. 1963: 122.
- [3] *Ch. P* (1995) Vol I (中国药典 1995 年版. 一部) [S]. 1995: 19.
- [4] *Ch. P* (2015) Vol I (中国药典 2015 年版. 一部) [S]. 2015: 26.
- [5] ZHANG Y P, CHEN J Z, AO Z H. Advances in studies on active constituents of different species, origins and parts of Maidong [J]. *China Pract Med* (中国实用医药), 2008, 3(10):191-193.
- [6] DING R, DI T Y, WANG G L, et al. HPLC-ELSD Determination of ruscogenin 1-O- $[\beta$ -D-glucopyranoside (1 \rightarrow 2)] $[\beta$ -D-xylopyranosyl(1 \rightarrow 3)]- β -D-fucopyranoside in *Lirio pemsuari* (Decne.) Bailey [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2011, 31(1):127-130.
- [7] ZHANG P, ZHANG N P, HAN K Z, et al. Studies on the quality and quantity analysis methods of *Lirio pemsuari* (Decne.) Bailey [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2009, 29(1):35-38.
- [8] YAO L W, WANG G L, WANG F, et al. Determination of ophiopogonin D' in *Ophiopogonis Radix* by HPLC-ELSD [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 49(11):1419-1420.
- [9] ZHANG W, SONG W J, WU J G, et al. UPLC-MS/MS Determination of Radix *Ophiopogonis* in Fukangning Tablets [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2017, 39(4):867-869.
- [10] HAN F M, LI Z, ZHANG L, et al. Characteristic fingerprints of saponins in Radix *Liriopes* and Radix *Ophiopogonis* by HPLC/ESI-MS [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2005, 40(11):1619-1621.
- [11] YANG H B, WANG Z K, HUANG B S, et al. Research on the planting history of Hubei Maidong (*Liriopes Radix*) [J]. *Mod Chin Med* (中国现代中药), 2017, 19(12):1771-1775.
- [12] TAN M X, CHEN J L, ZOU L S, et al. Comparative analysis of multiple index constituents in *Ophiopogonis Radix* and *Liriopes Radix* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2018, 43(20):4084-4092.

(收稿日期:2019-04-30)