

752-757.

- [8] 徐泰, 张思明, 朱文标, 等. BRCA1 在三阴性乳腺癌患者中的表达及与临床预后关系的 Meta 分析 [J]. 牡丹江医学院学报, 2020, 41 (3) : 80-84.
- [9] 黄其文, 莫慧, 黎新喜. CC 趋化因子受体因子 4 在年轻乳腺癌患者中的表达及与临床预后的相关性研究 [J]. 世界复合医学, 2020, 6 (6) : 113-115.
- [10] 刘俊骥. 乳腺癌患者血清、肿瘤组织中 VEGF、IL-17 的表达及与临床预后的相关性探讨 [J]. 医学理论与实践, 2020, 33 (9) : 1501-1503.
- [11] 李伟杰, 白洁, 谢贤鑫, 等. 血小板与淋巴细胞比值预测三阴性乳腺癌临床预后及与免疫球蛋白表达的关系 [J]. 现代肿瘤医学, 2020, 28 (8) : 1293-1297.
- [12] 杨建梅, 韩春荣. 乳腺癌分子分型与临床病理特点及预后的关系 [J]. 中国继续医学教育, 2019, 11 (30) : 72-74.
- [13] 刘庆伟. 老年女性乳腺癌临床病理特征、治疗方式及预后的临床研究 [J]. 牡丹江医学院学报, 2019, 40 (3) : 70-73.
- [14] 平婷, 王玉娟, 张晓晓, 等. 年轻乳腺癌患者生育意愿现况及影响因素分析 [J]. 河南医学研究, 2022, 31 (5) : 833-836.
- [15] 陈樱, 颜蕴文, 张敬杰, 等. 年轻女性乳腺癌的临床特征及死亡影响因素分析 [J]. 安徽医学, 2020, 41 (9) : 1030-1032.

[文章编号] 1007-0893(2023)16-0019-05

DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2023.16.006

天麻安神汤鉴别和含量测定研究

张艳英¹ 何毅文² 刘丽妹¹

(1. 连州市人民医院, 广东 连州 513499; 2. 广东省第二中医院 广东省中医药工程技术研究院, 广东 广州 510095)

[摘要] 目的: 建立天麻安神汤主要药味的薄层鉴别和君药天麻中天麻素和对羟基苯甲醇的同时测定方法, 用于对该方剂进行准确质量控制和评价。方法: 对天麻和首乌藤使用薄层色谱法 (TLC) 鉴别, 含量测定采用高效液相色谱法 (HPLC), Agilent TC C18 色谱柱为固定相, 以乙腈-0.05% 磷酸溶液 (3:97) 为流动相, 流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 检测波长 220 nm, 柱温 25 °C, 进样量 10 μL, 以天麻素和对羟基苯甲醇平行制备 10 批天麻安神汤进行测定。结果: 10 批样品进行含量测定结果显示, 天麻素的含量为 0.0311 ~ 0.0365 mg · mL⁻¹, 对羟基苯甲醇为 0.0210 ~ 0.0245 mg · mL⁻¹。结论: 对天麻安神汤君药天麻中天麻素和对羟基苯甲醇进行了同时测定, 方法快速、准确、高效, 为该方剂的质量精准控制提供了科学依据。

[关键词] 天麻安神汤; 天麻素; 对羟基苯甲醇**[中图分类号]** R 28 **[文献标识码]** A

Identification and Content Determination of Tianma Anshen Decoction

ZHANG Yanying¹, HE Yiwen², LIU Limei¹

(1. Lianzhou People's Hospital, Guangdong Lianzhou 513499; 2. Guangdong Second Traditional Chinese Medicine Hospital, Guangdong Research Institute of Traditional Chinese Medicine Manufacturing Technology, Guangdong Guangzhou 510095)

[Abstract] Objective The thin-layer identification of main medicinal tastes of Tianma Anshen Decoction and the simultaneous determination of gastrodin and p-hydroxybenzyl alcohol in Tianma Anshen Decoction were established for the accurate quality control and evaluation of the prescription. Methods The identification of Gastrodia and Nightfork was performed by thin layer chromatography (TLC), and the content was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). Agilent TC C18 column was used as stationary phase, and acetonitrile-0.05% phosphoric acid solution (3:97) as the mobile phase, the flow rate was $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, the detection wavelength was 220 nm, the column temperature was 25 °C, and the sample size was 10 μL. 10 batches of Tianma Anshen decoction were prepared by parallel preparation of gastrodin and p-hydroxybenzyl alcohol. Results The results

[收稿日期] 2023-06-08

[作者简介] 张艳英, 女, 副主任中药师, 主要研究方向是中药学。

of 10 batches of samples showed that the content of gastrodin was $0.0311 \sim 0.0365 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ and p-hydroxybenzyl alcohol was $0.0210 \sim 0.0245 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$. Conclusion The simultaneous determination of gastrodin and p-hydroxybenzyl alcohol in Gastrodia is carried out. The method is rapid, accurate and efficient, which provided scientific basis for the precise quality control of the prescription.

[Keywords] Tianma Anshen decoction; Gastrodin; P-hydroxybenzyl alcohol

天麻安神汤为医院内科临床验方，主治失眠、心烦等症，具有安神定气、调理经络等功效，患者服用效果好。该方由天麻、首乌藤、茯苓、陈皮等药味组成，根据病情和诊断适当调整、加减^[1-3]。为更好地服务患者，提高药物应用效率，药剂科经处方统计和临床用药情况收集，决定将该方开发为协定方汤剂，采用统一处方预先制成免煎剂等方法增加供应量，避免患者自行制备的麻烦和效果不均一等问题。因此，必须建立基于现代药物分析技术的质量控制方法，确保制备成品的安全性，稳定性^[4-5]。天麻安神汤以天麻为君药，该药味具有息风止痉，平抑肝阳，祛风通络，现代药理学研究显示，天麻及其提取物能够促进脑部血流再灌注，改善脑梗死病症，防治神经系统疾病，上述药理活性为天麻安神汤的功效主治提供坚实的物质基础。因此，对天麻进行质量控制，可以准确地抓住影响该汤剂疗效的关键药味。文献报道表明，天麻中所含的天麻素和对羟基苯甲醇等成分具有神经系统保护作用、抗脑损伤、对心血管的保护作用、改善肠道吸收、提高机体体液免疫等多种药理活性^[6-7]。因此，现行版《中国药典》选择上述成分作为含量测定指标成分，并有根据药典开展的含量测定研究见诸报道，为天麻安神汤的质量标准研究提供了方向^[8]。

1 仪器、试剂和材料

含量测定采用 Waters 2695e 高效液相色谱仪，配备 PDA 检测器，自动进样器和柱温箱，购自美国 Waters 公司；样品称量使用瑞士 Metteler-Toledo 电子精密分析天平。天麻（批号：120944-202112）、首乌藤（批号：120939-201908）对照药材，天麻素对照品（批号：110807-202010）和对羟基苯甲醇对照品（批号：111970-201702）购自中国食品药品检定研究院，制备天麻安神汤所用天麻、首乌藤、茯苓、陈皮等药材购自广东康美药业股份有限公司。样品前处理（包括提取、分离、纯化、稀释等操作）及薄层色谱供试品、对照品溶液制备使用的甲醇为分析纯，购自广州化学试剂厂。高效液相色谱法（high performance liquid chromatography, HPLC）分析使用流动相乙腈、磷酸，以及含量测定供试品制备用甲醇为色谱纯，购自德国 Sigma-Aldrich 公司，实验用纯净水为娃哈哈超纯水。

1.2 方法

1.2.1 主要药味鉴别

1.2.1.1 天麻的鉴别方法 取汤剂 20 mL，挥去溶剂，

残渣加硅藻土拌样，所得混合物加甲醇 20 mL，超声处理 30 min，所得提取液滤过，滤液浓缩至干，残渣加甲醇 1 mL 使溶解，作为供试品溶液。另取天麻对照药材 1 g，自“超声处理 30 min 钟”起同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法（《中国药典》2020 年版四部通则 0502）试验，供试品溶液和对照药材溶液点样量均为 10 μL ，固定相为硅胶 G 薄层板上，展开剂使用二氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水（2:4:2.5:1）的混合溶液，展开，取出，晾干，喷以对羟基苯甲醛溶液（取对羟基苯甲醛 0.2 g，溶于乙醇 10 mL 中，加 50 % 硫酸溶液 1 mL，混匀），在 120 °C 加热至斑点显色清晰，置日光下观察。比较薄层板上供试品和对照药材条带，如二者存在相同颜色的斑点，即可认定为汤剂中检出天麻。

1.2.1.2 首乌藤的鉴别方法 取汤剂 20 mL，挥去溶剂，残渣加硅藻土拌样，加乙醇 50 mL，加热回流 1 h，所得提取液滤过，滤液浓缩至 1 mL，作为供试品溶液。另取首乌藤对照药材 0.25 g，同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法（《中国药典》2020 年版四部通则 0502）试验，上述三种溶液点样量均为 20 μL ，固定相为硅胶 H 薄层板上，展开剂为石油醚（30 ~ 60 °C）-甲酸乙酯-甲酸（15:5:1）的上层溶液，展开，取出，晾干，置紫外光灯（365 nm）下观察。比较薄层板上供试品和对照药材条带，如二者存在相同颜色的荧光斑点，且将薄层板置氨蒸气中熏后，上述斑点变为红色，即可认定为汤剂中检出首乌藤。

1.2.2 对照品配制

分别精密称取天麻素和对羟基苯甲醇对照品 5 mg，分别置于两个 10 mL 量瓶中，以乙腈-水（7:93）为溶剂溶解并定容至刻度；取两种化合物溶液，分别精密吸取适量，混合于同一 10 mL 量瓶中，制成 1 mL 含天麻素 50 μg ，对羟基苯甲醇 25 μg 的混合对照品溶液。

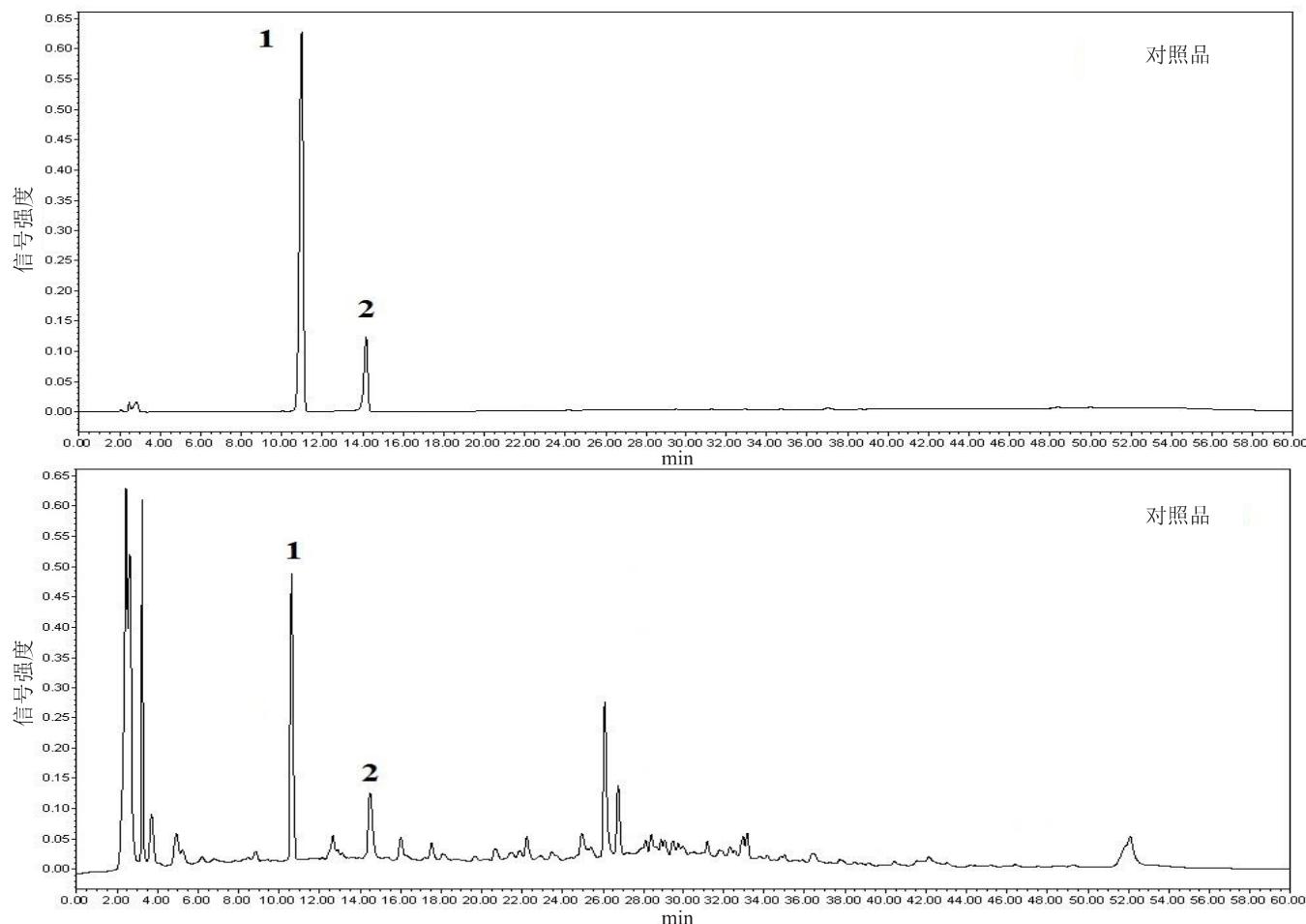
1.2.3 供试品溶液制备

取处方量药材，加相当于总药材重量 40 倍的纯净水煎煮两次，每次 60 min，合并煎液，浓缩至约 200 mL，转移至 250 mL 量瓶中，加水定容至刻度。摇匀上述溶液，精密吸取 1 mL，置于 10 mL 量瓶中，加 20 % 乙腈稀释并定容至刻度，所得混合液以 0.45 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液作为供试品溶液。

1.2.4 含量测定方法

以 Agilent TC C18 色谱柱为固定相（规格：柱长 250 mm，内径 4.6 mm，填料粒径 4.6 μm ），以乙腈-0.05 % 磷酸溶液（3:97）为流动相，流速 1.0 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ，检测

波长 220 nm, 柱温 25 °C, 进样量 10 μL。对照品和供试品色谱图, 见图 1。



注: 峰 1 为天麻素 (对照品溶液浓度 $50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) , 峰 2 为对羟基苯甲醇 (对照品溶液浓度 $25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)

图 1 对照品和供试品色谱图

1.2.5 含量测定方法学

1.2.5.1 标准曲线和线性 取“1.2.2”项下制备的天麻素和对羟基苯甲醇储备液, 于同一 5 mL 量瓶内混合, 加乙腈-水 (7:93) 制成 1 mL 含天麻素 200 μg, 对羟基苯甲醇 100 μg 的混合对照品溶液, 将所得溶液加相同溶剂逐级稀释, 制成天麻素浓度分别为 100、50、25、10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 对羟基苯甲醇浓度分别为 50、25、10、5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液, 吸取上述溶液, 使用“1.2.4”项下 HPLC 条件检测天麻素和对羟基苯甲醇色谱峰, 以峰面积为 y 轴, 浓度为 x 轴, 代入 excel 进行线性回归, 求二者的回归方程。

1.2.5.2 精密度考察 取供试品溶液, 使用“1.2.4”项下 HPLC 条件检测天麻素和对羟基苯甲醇色谱峰, 连续重复 6 次, 记录二者峰面积, 计算峰面积的相对标准偏差 (relative standard deviation, RSD)。

1.2.5.3 重复性考察 按“1.2.3”项下供试品制备方法平行制备 6 份供试品溶液, 吸取上述溶液, 使用“1.2.4”

项下 HPLC 条件检测天麻素和对羟基苯甲醇色谱峰, 记录二者峰面积, 计算峰面积的 RSD。

1.2.5.4 稳定性考察 取供试品溶液, 放入样品瓶后置于自动进样器中, 分别于静置 0、2、4、6、8、12 h 后使用“1.2.4”项下 HPLC 条件检测天麻素和对羟基苯甲醇色谱峰, 记录二者峰面积, 计算含量和含量的 RSD。

1.2.5.5 加样回收率测定 取天麻安神汤 0.5 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 按表 1、表 2 规定的量加入天麻素和对羟基苯甲醇对照品溶液, 加 20 % 乙腈稀释并定容至刻度, 所得混合液以 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液作为供试品溶液。吸取上述溶液, 使用“1.2.4”下 HPLC 条件检测天麻素和对羟基苯甲醇色谱峰, 记录二者峰面积, 计算含量, 回收率和回收率的 RSD。

1.2.6 多批次样品测定

使用“1.2.3”项下方法制备多批天麻安神汤, 再将所得汤剂制成供试品溶液, 使用“1.2.4”下 HPLC 条件检测天麻素和对羟基苯甲醇色谱峰, 记录二者峰面积, 计算含量。

2 结 果

2.1 TLC 鉴别结果

在供试品和对照药材色谱上，分别检出天麻和首乌藤的斑点相对应，表明能够成功地鉴别出天麻安神汤中的两个药味，可将上述药味的薄层色谱法（thin layer chromatography, TLC）列入，见封三图2、图3。

2.2 含量测定方法学考察结果

根据测定一系列浓度的天麻素和对羟基苯甲醇对照品溶液结果，计算得天麻素的标准曲线为 $y = 12667x - 42369$ ($r^2 = 0.9994$)，对羟基苯甲醇标准曲线为 $y = 2840.1x + 3000.9$ ($r^2 = 0.9993$)，上述结果表明方法线性良好，能够在 $10 \sim 200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $5 \sim 100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度范围内分别对天麻素和对羟基苯甲醇进行准确测定。精密度实验结果显示，天麻素和对羟基苯甲醇峰面积的RSD为0.79%和1.84%，表明方法精密度良好。6批平行制备样品天麻素和对羟基苯甲醇峰面积的RSD为1.06%和1.37%，结果表明方法重复性良好。稳定性考察结果显示，天麻素和对羟基苯甲醇各自测定浓度值的RSD分别为1.90%和1.22%，表明样品在12 h内稳定。加样回收试验结果具体见表1、表2。

表1 天麻素加样回收率试验结果

项 目	原 有 量 /mg · mL ⁻¹	加 入 量 /mg · mL ⁻¹	测 得 量 /mg · mL ⁻¹	回 收 率 /%	平 均 /%	RSD /%
L-1	0.0179	0.0089	0.0273	105.37		
L-2	0.0179	0.0089	0.0273	100.43		
L-3	0.0179	0.0089	0.0273	101.96		
M-1	0.0179	0.0179	0.0273	107.89		
M-2	0.0179	0.0179	0.0273	104.52	101.37	4.72
M-3	0.0179	0.0179	0.0273	92.38		
H-1	0.0179	0.0268	0.0273	96.99		
H-2	0.0179	0.0268	0.0273	103.99		
H-3	0.0179	0.0268	0.0273	98.85		

注：RSD—相对标准偏差。

表2 对羟基苯甲醇加样回收率试验结果

项 目	原 有 量 /mg · mL ⁻¹	加 入 量 /mg · mL ⁻¹	测 得 量 /mg · mL ⁻¹	回 收 率 /%	平 均 /%	RSD /%
L-1	0.0104	0.0052	0.0152	92.27		
L-2	0.0104	0.0052	0.0154	100.43		
L-3	0.0104	0.0052	0.0155	101.96		
M-1	0.0104	0.0104	0.0211	107.89		
M-2	0.0104	0.0104	0.0213	104.52	99.92	5.37
M-3	0.0104	0.0104	0.0216	92.38		
H-1	0.0104	0.0156	0.0262	96.99		
H-2	0.0104	0.0156	0.0250	103.99		
H-3	0.0104	0.0156	0.0255	98.85		

注：RSD—相对标准偏差。

2.3 多批样品含量测定结果

对10批样品进行含量测定，结果显示，天麻素的含量为 $0.0311 \sim 0.0365 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，对羟基苯甲醇为

$0.0210 \sim 0.0245 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ，见表3。

表3 10批样品含量测定结果

批 号	天 麻 素 /mg · mL ⁻¹	对 羓 基 苯 甲 醇 /mg · mL ⁻¹
TM001	0.0341	0.0210
TM002	0.0347	0.0219
TM003	0.0327	0.0216
TM004	0.0361	0.0221
TM005	0.0329	0.0225
TM006	0.0365	0.0219
TM007	0.0311	0.0245
TM008	0.0325	0.0217
TM009	0.0338	0.0225
TM010	0.0321	0.0224

3 讨 论

本研究建立了天麻和首乌藤的鉴别方法，也对其它药味进行了鉴别方法摸索，结果均为与对照药材无清晰斑点对应，或存在阴性干扰，因此最终选择天麻和首乌藤的TLC方法。这可能是由于其他药味中能够专属鉴别的成分在汤剂制备过程中无法被水提取，或因为高温、水解等原因产生反应。鉴于天麻和首乌藤是天麻安神汤的君药和臣药，这两味药列入鉴别方法已能满足院内制剂标准的规范和代表性需要，因此最终确定将其列入本方的鉴别标准。

在预实验中，对供试品的制备方法进行了考察，分别考察不同溶剂种类（乙腈、甲醇），不同溶剂比例（20%、50%、100%乙腈）和不同提取方式（直接溶解和乙酸乙酯萃取后7%乙腈复溶）等条件。结果显示，甲醇无法充分除去水煎液中的残渣和杂质，且所得测定结果偏低。当乙腈比例提高时（50%、100%），虽然溶液中杂质大部分沉淀，但所得结果仍偏低。比较不同提取方式发现，乙酸乙酯无法较好地萃取出水煎液中的指标性成分。产生上述结果的原因，可能为水煎液中的药渣、固体或干扰物影响了萃取，较高比例的有机溶剂无法与上述物质充分互动，将指标成分从药液中萃取出来。此外，天麻素和对羟基苯甲醇较易被高极性溶剂提取，因此当有机相比例增加时，上述成分的溶解度显著下降，导致结果偏低。

本研究所制备的天麻安神汤采用的工艺虽然进行了一定程度的标准化，但并未在已建立的含量测定方法基础上，对影响煎液制备的关键工艺参数如煎煮时间、煎煮次数、水量等进行科学、全面的考察，所得结果可能并非最优。在后续的研究中，将继续深入开展上述方面的内容。本研究对天麻安神汤君药天麻的两种成分建立了含量测定方法，该方法快速、高效、可重现，能够较好地适应该制剂的质量评价，并为其后续开发和深入研究奠定了基础。

[参考文献]

- [1] 宋雪云, 王少伟, 吴胜峰, 等. 虫半夏白术天麻汤联合丹红注射液对风痰瘀阻型急性缺血性脑卒中患者血液流变学及血清炎症指标的影响 [J]. 四川中医, 2022, 40 (10) : 131-135.
- [2] 王娟, 石倩, 王雷. 天麻钩藤饮联合醒脑开窍针法治疗肝阳上亢型脑梗死急性期临床观察 [J]. 光明中医, 2022, 37 (20) : 3730-3733.
- [3] 张彦彦, 李晶洁, 龙芸莺, 等. 天麻钩藤饮防治神经系统疾病的研究进展 [J]. 中成药, 2022, 44 (9) : 2901-2905.
- [4] 杨波, 周启微, 甘昌敏, 等. 对云南省医疗机构制剂发展的建议 [J]. 世界中医药, 2021, 16 (7) : 1142-1145.
- [5] 陈旭, 周立新, 李娜, 等. 北京市医疗机构制剂研发与应用现状及分析 [J]. 首都食品与医药, 2017, 24 (2) : 5.
- [6] 李阳, 邵宇. 天麻素经 TLR4-NF- κ B 信号通路对帕金森大鼠的干预作用 [J]. 河北医药, 2022, 44 (17) : 2591-2594.
- [7] 于涵, 张俊, 陈碧清, 等. 天麻化学成分分类及其药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53 (17) : 5553-5564.
- [8] 张玥, 王彩云, 周雪, 等. 基于多指标同时定量的天麻块茎不同部位质量特征研究 [J]. 中草药, 2022, 53 (20) : 6337-6342.

[文章编号] 1007-0893(2023)16-0023-04

DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2023.16.007

299 例单侧鼻腔鼻窦病变临床分析

陈净华 陈蔚华 娄光明*

(福建医科大学附属龙岩第一医院, 福建 龙岩 364000)

[摘要] 目的: 对单侧鼻腔鼻窦病变特点进行分析以期更好地对单侧鼻窦病变进行临床管理。方法: 回顾性分析 2018 年 1 月至 2021 年 12 月福建医科大学附属龙岩第一医院收治的 299 例单侧鼻腔鼻窦病变患者临床资料, 分析患者主要临床表现、鼻腔鼻窦病变检出类型、临床诊断及治疗方法及预后情况。结果: 无典型临床症状者占 5.69%, 伴明显临床症状者占 94.31%。慢性鼻窦炎、鼻腔鼻窦内翻性乳头状瘤及鼻窦真菌病检出率最高。全部患者术前经鼻内镜检查、鼻窦检查并结合患者临床症状和病史进行病情诊断, 接受磁共振成像 (MRI) 检查者占 50.84%, 接受鼻腔肿物活检病理检查者占 39.13%, 术前明确诊断者占 77.26%, 术中及术后方明确诊断者占 22.74%。保守治疗者占 6.69%, 接受手术治疗者占 93.31%。并发症总发生率达 2.34%。随访结果表明复发率达 1.00%, 经对症治疗后恢复良好。结论: 单侧鼻窦病变性质复杂及疾病类型丰富, 以慢性鼻窦炎、鼻腔鼻窦内翻性乳头状瘤及鼻窦真菌病最为常见, 术前诊断应完善辅助检查, 提高诊断准确率, 有助于临床医生有针对性地制定治疗方案, 可提高临床治疗效果, 改善患者预后。

[关键词] 鼻窦病变; 单侧鼻腔; 病理诊断

[中图分类号] R 765 **[文献标识码]** B

Clinical Analysis of 299 Cases of Unilateral Nasal Cavity and Sinus Disease

CHEN Jinghua, CHEN Weihua, LOU Guangming*

(Longyan First Hospital Affiliated to Fujian Medical University, Fujian Longyan 364000)

[Abstract] Objective To analysis the unilateral nasal cavity and sinus disease for improve the diagnose and management of the unilateral sinus disease. Methods The clinical data of 299 patients with unilateral nasal and sinus disease admitted to Longyan First Hospital Affiliated to Fujian Medical University from January 2018 to December 2021 were retrospectively analyzed, and the main clinical manifestations, detected types of nasal and sinus disease, clinical diagnosis, treatment and prognosis of the

[收稿日期] 2023-06-19

[作者简介] 陈净华, 女, 副主任医师, 主要从事耳鼻咽喉科的工作。

[※ 通信作者] 娄光明 (E-mail: 619674971@qq.com; Tel: 13826236931)