

榄葱茶质量标准

郭小媚¹, 何文彬², 刘广涛², 王岩^{1*}

(1. 广东药学院, 广州 510006; 2. 广东台城制药股份有限公司, 广东 台山 529200)

[摘要] 目的:提高榄葱茶的质量标准。方法:采用 TLC 对制剂中青果、紫苏叶、生姜进行定性鉴别,采用 HPLC 测定迷迭香酸和没食子酸的含量。结果:TLC 鉴别斑点清晰,分离效果良好,阴性对照无干扰;迷迭香酸在 0.098~4.912 μg 呈线性关系($r=0.9999$),平均回收率为 100.24% (RSD 2.9%)。没食子酸在 0.1002~1.5030 μg 呈线性关系($r=0.99997$),平均加样回收率为 99.02% (RSD 1.8%)。结论:所建立的方法专属性强、灵敏度高、重复性好,有利于该制剂的质量控制。

[关键词] 榄葱茶; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 迷迭香酸; 没食子酸

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)21-0075-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014210075

Quality Standard of Lancong Cha

GUO Xiao-mei¹, HE Wen-bin², LIU Guang-tao², WANG Yan^{1*}

(1. Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China;

2. Guangdong Taicheng Pharmaceutical Co. Ltd, Taishan 529200, China)

[Abstract] **Objective:** To improve the quality standard of Lancong Cha. **Method:** Canarii Fructus, Perillae Folium and Zingiberis Rhizoma Recens in the recipe were identified by TLC. The contents of rosmarinci acid and gallic acid were determined by HPLC. **Result:** The TLC spots were clearly and separated well, and the negative control did not impose any disturbance. Rosmarinci acid had good linearity in a range of 0.098-4.912 μg ($r=0.9999$). The average recovery was 100.24%, and RSD was 2.9%. Gallic acid had good linearity in a range of 0.1002-1.5030 μg ($r=0.99997$). The average recovery was 99.02%, and RSD was 1.8%. **Conclusion:** The method was specific, sensitive and repeatable, can be used to control the quality of Lancong Tea better.

[Key words] Lancong Cha; TLC; HPLC; rosmarinci acid; gallic acid

榄葱茶是由青果、生姜、紫苏叶和葱头组成的成方制剂,收载于《卫生部药品标准中药成方制剂》第六册,具有解表、平胃之功效,用于伤风感冒所致的发热、头痛、流涕、喷嚏、喉痒咽痛、胸腹胀满。迷迭香酸、没食子酸分别为方中君药紫苏叶和臣药青果的主要有效成分,均具有很好的抗炎、抗病毒、抑菌等作用^[1-2]。原质量标准仅对成品的水分和微生物限度进行检查。为了更好地控制本品质量,本文采用薄层色谱法对方中青果、生姜、紫苏叶进行了定性鉴别,采用高效液相色谱法测

定了制剂中没食子酸和迷迭香酸的含量,为提高榄葱茶的质量标准提供了依据。

1 仪器与试剂

1260 系列高效液相色谱仪(安捷伦科技有限公司),ZF-C 型三用紫外分析仪(上海康禾光电仪器有限公司),BP211D 型电子天平(北京赛多利斯仪器有限公司),TU-1901 型双光束紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司)。没食子酸、迷迭香酸、6-姜辣素对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110831-200803,111871-201001,111833-201001),干

[收稿日期] 20140106(028)

[第一作者] 郭小媚,硕士,从事中药制剂研究与开发,E-mail:105304430@qq.com

[通讯作者] * 王岩,博士,教授,从事中药制剂研究与开发,Tel:020-39352169,E-mail:gduwuy@126.com

姜对照药材、紫苏叶对照药材(中国食品药品检定研究院,批号 120942-200505,120914-200708),榄葱茶(广东台城制药股份有限公司,批号 20130101~20130103)。薄层色谱硅胶 G 预制板(青岛海洋化工有限公司),甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别

2.1.1 青果的 TLC 鉴别^[3,4] 取本品 1 g,加甲醇 20 mL,超声处理 15 min,滤过,滤液挥至 2 mL,作为供试品溶液;取没食子酸对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液,作为对照品溶液;另取缺青果药材的阴性样品 1 g,同供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VIB)试验,吸取上述溶液各 4 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯-甲酸(8:8:1)为展开剂,展开,取出晾干,喷以 2% FeCl_3 乙醇溶液显色。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。

2.1.2 紫苏叶的 TLC 鉴别^[3,5] 取本品 1 g,加石油醚(60~90 $^{\circ}\text{C}$) 20 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液挥至 2 mL,作为供试品溶液;取紫苏叶对照药材 0.5 g,同法制成对照药材溶液;取缺紫苏叶的阴性样品 1 g,按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VIB)试验,吸取上述溶液各 5 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(60~90 $^{\circ}\text{C}$)-乙酸乙酯-甲醇-氨水(6:4:1.5:0.1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰,置紫外光灯(365 nm)下检视,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,阴性对照无干扰。

2.1.3 生姜的 TLC 鉴别^[7] 取本品 5 g,加石油醚(60~90 $^{\circ}\text{C}$) 20 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液挥至 1 mL,作为供试品溶液;取生姜对照药材 0.5 g,同法制成对照药材溶液;取 6-姜辣素对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液,作为对照品溶液;另取缺生姜的阴性样品 5 g,按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VIB)试验,吸取供试品溶液、阴性对照溶液各 4 μ L,对照药材溶液、对照品溶液各 2 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯-氨水(6:4:0.2)为展开剂,展开约 12 cm,取

出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照药材色谱和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。

2.2 迷迭香酸含量测定

2.2.1 色谱条件与系统适应性试验^[3,7] Inertsil ODS-3 C_{18} 色谱柱(4.6 mm \times 150 mm, 5 μ m),流动相 甲醇-0.1% 磷酸溶液(35:65),检测波长 330 nm,流速 1.0 mL \cdot min⁻¹,柱温 25 $^{\circ}\text{C}$ 。理论板数按迷迭香酸峰计算不低于 6 000。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品约 1 g,混匀,精密称定,置 250 mL 锥形瓶中,精密加入 75% 甲醇 20 mL,称定质量,加热回流 30 min,取出,放冷,用 75% 甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 线性关系考察 精密称取迷迭香酸对照品 12.28 mg,置 25 mL 量瓶中,加 75% 甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为迷迭香酸对照品贮备液。精密量取 1 mL 贮备液,分别置 10, 25, 50 mL 量瓶中,再精密量取贮备液 2, 3, 5, 8, 10 mL,分别置 10 mL 量瓶中,加 75% 甲醇稀释至刻度,摇匀。分别精密吸取上述溶液 10 μ L 注入液相色谱仪,依法测定,以对照品进样量(μ g)为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,得线性回归方程 $Y = 3\ 107.1X - 112.4$, $r = 0.999\ 9$ 。结果表明,迷迭香酸在 0.098~4.912 μ g 与其峰面积呈良好的线性关系。

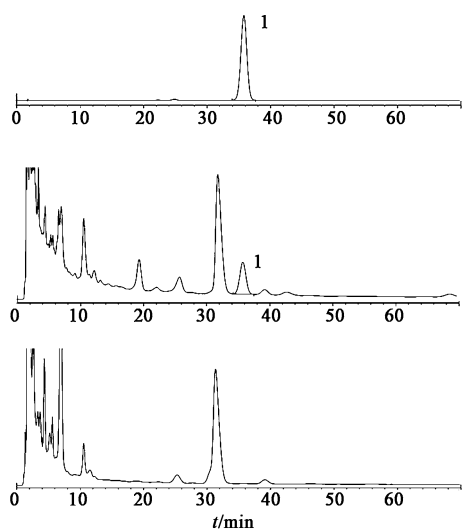
2.2.4 精密度试验 精密吸取 38.6 mg \cdot L⁻¹ 的迷迭香酸对照品溶液 10 μ L,按上述色谱条件连续重复进样 6 次,测定峰面积,结果迷迭香酸面积 RSD 0.59%,表明精密度良好。

2.2.5 重复性试验 取同批样品(批号 20130103)共 6 份,按供试品溶液制备方法平行制备,按上述色谱条件测定,结果迷迭香酸平均质量分数为 1.17 mg \cdot g⁻¹,RSD 1.82%,结果表明供试品重复性良好。

2.2.6 稳定性试验 取同一份供试品溶液,室温放置,分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 进样,依法测定,结果迷迭香酸含量的 RSD 0.12%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.2.7 专属性试验 取缺紫苏叶药材的阴性样品 1 g,按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液及阴性对照溶液各 10 μ L,按上述色谱条件进样测定,结果阴性对照无干扰,说明该法具有良好的专属性,见图 1。

2.2.8 加样回收率试验 取同一批已知含量的样品(批号 20130102)6 份,每份约 0.5 g,精密称定,置



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 迷迭香酸

图1 榄葱茶中迷迭香酸 HPLC

250 mL 锥形瓶中,分别精密加入为 $0.3590 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的迷迭香酸对照品溶液 2 mL,按供试品溶液的制备方法处理,依法测定,计算回收率,结果见表 1。

表1 迷迭香酸加样回收率试验

取样量 /g	样品中量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.504 8	0.656 2	1.356 6	97.54		
0.518 7	0.674 3	1.424 7	104.51		
0.503 4	0.654 4	1.369 8	99.64	100.26	2.9
0.505 2	0.656 8	1.353 4	97.02		
0.505 3	0.656 9	1.377 1	100.31		
0.505 6	0.657 3	1.393 4	102.52		

注:加入量均为 0.7180 mg 。

2.2.9 样品含量测定 取 1 g 榄葱茶样品 6 份(3 批,各 2 份),精密称定,按上述方法制成供试品溶液,依法测定,计算迷迭香酸的含量,结果 3 批样品中迷迭香酸的质量分数分别为 1.20, 1.27, 1.15 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

2.3 没食子酸的含量测定

2.3.1 色谱条件与系统适应性试验^[9]

Capcellpark- C_{18} 色谱柱 ($4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}, 5 \mu\text{m}$), 流动相甲醇-0.1% 磷酸水溶液 (5:95), 检测波长 216 nm, 流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 柱温 $30 \text{ }^\circ\text{C}$, 理论板数按没食子酸峰计算不低于 3 000。

2.3.2 供试品溶液的制备 精密吸取 2.2.2 项下的续滤液 5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加 75% 甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.3.3 线性关系考察 精密称取没食子酸对照品 5.01 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加 75% 甲醇溶解并稀释

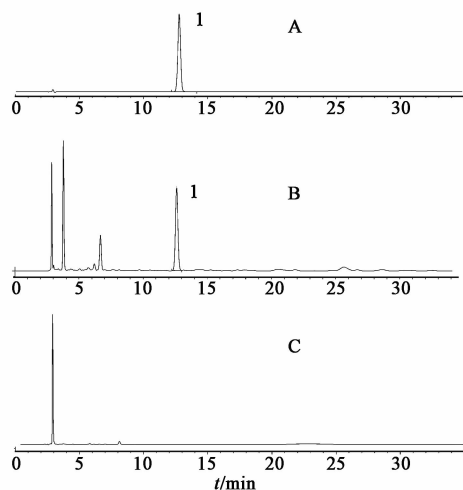
至刻度, 摇匀, 作为没食子酸对照品贮备液, 精密吸取 1, 2, 4, 6, 8 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加 75% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。分别精密吸取上述溶液 $10 \mu\text{L}$ 和贮备液 10, 15 μL , 注入液相色谱仪依法测定, 以对照品进样量 (μg) 为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 得线性回归方程 $Y = 8518.2X - 42.72$, $r = 0.99997$ 。结果表明, 没食子酸在 $0.1002 \sim 1.503 \mu\text{g}$ 与其峰面积呈良好的线性关系。

2.3.4 精密度试验 精密吸取质量浓度为 $24.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的没食子酸对照品溶液 $10 \mu\text{L}$, 按上述色谱条件连续重复进样 6 次, 测定峰面积, 结果没食子酸峰面积 RSD 0.21%, 说明精密度良好。

2.3.5 重复性试验 取同批样品 (批号 20130103) 共 6 份, 按供试品溶液制备方法平行制备, 按上述色谱条件测定, 结果没食子酸平均质量分数为 $5.72 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 2.56%。

2.3.6 稳定性试验 取同一份供试品溶液, 室温放置, 分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h 进样, 依法测定, 结果没食子酸含量 RSD 0.09%, 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.3.7 专属性试验 取缺青果药材的阴性样品约 1 g, 按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液及阴性对照溶液各 $10 \mu\text{L}$, 按上述色谱条件进样测定, 结果阴性对照无干扰, 说明该法具有良好的专属性, 见图 2。



A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 没食子酸

图2 榄葱茶中没食子酸 HPLC

2.3.8 加样回收率试验 取同一批已知含量的样品 (批号 20130102) 6 份, 每份取约 0.5 g, 精密称定, 置 250 mL 锥形瓶中, 分别精密加入 $1.0416 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的没食子酸对照品溶液 3 mL, 按供试品溶液的制备

方法处理,依法测定,计算回收率,结果见表 2。

表 2 没食子酸加样回收率试验

取样量 /g	样品中量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.503 5	3.121 9	6.145 1	96.75	99.02	1.8
0.507 0	3.143 6	6.240 4	99.11		
0.505 1	3.131 7	6.305 6	101.57		
0.504 6	3.128 2	6.240 7	99.60		
0.505 4	3.133 4	6.255 5	99.91		
0.505 6	3.134 8	6.170 5	97.15		

注:加入量均为 3.124 8 mg。

2.3.9 样品测定 取 1 g 榄葱茶样品 6 份(3 批,各 2 份),精密称定,按上述方法制成供试品溶液,依法测定,计算没食子酸的含量,结果 3 批样品中没食子酸的质量分数分别为 3.42,6.13,5.67 mg·g⁻¹。

3 讨论

3.1 TLC 鉴别耐用性考察 分别考察了不同温湿度、点样量对分离效果的影响,结果最佳点样量时在不同温湿度下,生姜、紫苏叶和青果的主斑点清晰、圆整,具有良好的耐用性。

3.2 检测波长的选择 本研究采用紫外-可见分光光度计在 198~400 nm 对迷迭香酸、没食子酸对照品溶液和供试品溶液进行扫描。结果显示,没食子酸、迷迭香酸分别在 216,330 nm 处有最大吸收,供试品溶液在两波长处均有较大吸收。故本实验中没食子酸和迷迭香酸的检测波长分别选择 216,

330 nm。

3.3 提取条件的优化 以没食子酸和迷迭香酸含量为指标,采用单因素考察法考察了提取溶剂及提取方法,并采用 L₉(3⁴) 正交试验法,以提取时间、溶剂浓度、溶剂倍量为考察因素进行正交试验,根据实验结果确定供试品溶液制备的最佳条件为 75% 甲醇 25 倍量回流提取 30 min。

[参考文献]

[1] 黄幼霞,黄荣桂,郑兴中. 迷迭香酸药理作用的研究进展[J]. 海峡药学,2010,22(5):17.

[2] 许维国,刘洋,刘多见. 没食子酸抑菌活性分析[J]. 中国公共卫生,2012,28(10):1329.

[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:183,318,319.

[4] 王岩,陈沛玲,白玉春,等. 野牡丹止痢片的薄层鉴别研究[J]. 今日药学,2011,21(1):30.

[5] 张士勇,彭代银,高家荣,等. 杏苏止咳糖浆的质量控制研究[J]. 安徽医药,2012,16(4):457.

[6] 胡婧,易凡力,刘松青. 十五味黑药丸中 4 种活性成分的定性鉴别及胡椒碱的含量测定[J]. 第三军医大学学报,2011,33(6):621.

[7] 温春秀,刘灵娣,胡彦,等. 紫苏属植物药用成分含量比较[J]. 河北农业科学,2012,16(9):64.

[8] 刘舜慧,吴春敏. 反相高效液相色谱法测定青果颗粒中没食子酸的含量[J]. 海峡药学,2008,20(1):30.

[责任编辑 顾雪竹]

《中国医药导报》杂志 欢迎订阅 欢迎投稿

《中国医药导报》杂志是国家卫生和计划生育委员会主管、中国医学科学院主办的医药卫生期刊,现为旬刊,国内统一刊号:CN11-5539/R,国际标准刊号 ISSN1673-7210,邮发代号:80-372,本刊系中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)、美国化学文摘(CA)收录期刊、解放军医学图书馆中文生物医学期刊文献数据库收录期刊,所刊登的文章被万方数据、中国知网、中文科技期刊数据库全文收录。每期定价 20 元,全年 36 期优惠价 540 元。

本刊设专家论坛、综述、论著、实验研究、药理与毒理、临床研究、药物与临床、麻醉与镇痛、医学检验、病理分析、影像与介入、病例报告、医疗器械、中医中药、生物医药、药品检验、制剂与技术、药师与临床、不良反应监测、药物经济学、调查研究、护理研究、教育研究、科研管理、法规与标准、卫生研究、医疗管理、产业与市场、医药监管、工作探讨等栏目。是广大医药卫生科研、教育、医护、药事、经营管理人员了解医药研究进展、发展动态,展示医药科研成果,学习先进经验,探讨工作难题,交流和提高业务学术水平的得力助手,也是发表医药学术论文的阵地。在本刊发表的论文可获得继续教育学分。本刊订户凭订阅单复印件投稿优先发表。

社址:北京市朝阳区通惠家园惠润园(壹线国际)5-3-601 邮编:100025

投稿热线:010-59679061 59679063 发行热线:010-59679533

传真:010-59679056 投稿邮箱:yydb@vip.163.com

网址:www.yiyaodaobao.com.cn