

复方桔梗袋泡茶质量标准的研究

蔡 鹰^{*}, 余国祥

(中国人民解放军第 454 医院, 江苏 南京 210002)

[摘要] 目的: 制定复方桔梗袋泡茶质量控制标准。方法: 采用 TLC 对复方桔梗袋泡茶中甘草、薄荷、射干、南沙参进行鉴别, 用高效液相色谱法测定甘草酸的含量。结果: 定性鉴别灵敏、专属, 甘草酸铵在 19.2~96 μ g/mL 呈良好线性关系, 回收率为 99.25%。结论: 建立的定性、定量方法, 可作为本品的质量控制标准。

[关键词] 复方桔梗袋泡茶; 甘草酸铵; 高效液相色谱法; 薄层色谱鉴别法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)04-0016-03

临床上慢性咽炎病人很多, 病程长, 病情迁延, 较难治愈, 我们在实践经验基础上, 创复方桔梗袋泡茶, 由桔梗、甘草、薄荷、射干、南沙参等多味中药制成, 为了控制其产品质量, 我们进行了质量标准的研究。

1 仪器与试剂

SP8800 型高效液相色谱仪, Spectra SYSTEM UV2000 紫外检测器, Spectra physic。

对照药材, 甘草酸单铵盐对照品(中国药品生物制品检定所); 薄层层析用硅胶 G(青岛海洋化工有限公司); 甲醇为色谱纯, 其余为分析纯; 复方桔梗袋泡茶及阴性制剂(本院制剂室提供)。

2 方法与结果

2.1 甘草的薄层色谱鉴别^[1]

2.1.1 供试品溶液的制备 取本品 6g, 加乙醚 40mL, 加热回流 1h, 过滤, 药渣加甲醇 30mL, 加热回流 1h, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 40mL 使溶解, 用正丁醇提取 3 次, 每次 20mL, 合并正丁醇液, 用水洗涤 3 次, 蒸干, 残渣加甲醇 2mL 使溶解, 制成制剂供试液。

2.1.2 甘草对照液的制备 称取甘草粗粉 4g, 按供试品溶液的制备法制成桔梗对照药材溶液。

2.1.3 阴性对照液的制备 另取缺甘草阴性制剂, 同供试液制法, 制成阴性对照液。

2.1.4 薄层色谱条件与结果 吸取上述 3 种溶液

各 10 μ L, 分别点于同一用 1% 氢氧化钠溶液制备的硅胶 G 薄层板上, 以乙酸乙酯-甲酸-冰醋酸-水(15:1:1:2) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 在 105 $^{\circ}$ C 时加热至斑点清晰为止。供试液色谱在与对照药材溶液色谱上相应位置有相同的橙黄色斑点, 阴性对照液无此对应斑点。见图 1。

2.2 射干的薄层色谱鉴别^[1]

2.2.1 供试品溶液的制备 取本品 6g, 加甲醇 20mL, 超声 30min, 滤过, 滤液浓缩至 1mL, 制成制剂供试液。

2.2.2 射干对照液的制备 称取射干粗粉 4g, 按供试品溶液的制备法制成射干对照药材溶液。

2.2.3 阴性对照液的制备 另取缺射干阴性制剂, 同供试液制法, 制成阴性对照液。

2.2.4 薄层色谱条件与结果 吸取上述 3 种溶液各 10 μ L, 分别点于同一聚酰胺薄膜上, 以氯仿-丁酮-甲醇(3:1:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以三氯化铝试液, 置紫外光灯(365nm) 下检视, 供试液色谱在与对照药材色谱上相应位置有相同的斑点, 阴性对照液无此对应斑点。见图 1。

2.3 薄荷的薄层色谱鉴别^[1]

2.3.1 供试品溶液 取本品 6g, 加石油醚(60~90 $^{\circ}$ C) 20mL, 密塞, 振摇数分钟, 放置 30min, 过滤, 滤液作为制剂供试液。

2.3.2 薄荷对照液 称取薄荷药材 4g, 按供试品溶液的制备法制成薄荷对照药材溶液。

2.3.3 阴性对照液 取缺薄荷的阴性制剂, 同供试液制法, 制成阴性对照液。

2.3.4 薄层色谱条件与结果 吸取上述 4 种溶液

[收稿日期] 2005-06-01

[通讯作者] 蔡 鹰, Tel: (025) 80865307; E-mail: caiying1967@126.com

各10 μ L,分别点于同一硅胶G薄层板上,以苯-乙酸乙酯(19:1)为展开剂展开,取出,晾干,喷以香草醛硫酸试液-乙醇(1:4)的混合溶液,在100 $^{\circ}$ C加热至斑点显色清晰,供试液色谱在与对照药材溶液上相应位置有相同的斑点,阴性对照液无此对应斑点。见图1。

2.4 南沙参的薄层色谱鉴别^[1]

2.4.1 供试品溶液的制备 取本品6g,加甲醇30mL,加热回流1h,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇1mL溶解,制成制剂供试液。

2.4.2 南沙参对照液的制备 称取南沙参粗粉4g,按供试品溶液的制备法制成南沙参对照药材溶液。

2.4.3 阴性对照液的制备 另取缺南沙参阴性制剂,同供试液制法,制成阴性对照液。

2.4.4 薄层色谱条件与结果 吸取上述3种溶液10 μ L,分别点于同一硅胶G薄层板上,以氯仿-甲醇-甲酸(9:1:0.1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以磷钼酸试液,在105 $^{\circ}$ C时加热至斑点清晰为止。供试液色谱在与对照药材溶液色谱上相应位置有相同的黑色斑点,阴性对照液无此对应斑点。见图1。

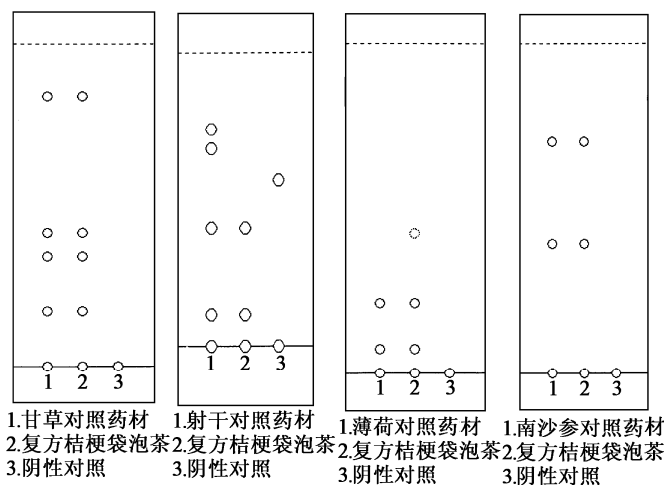


图1 复方桔梗袋泡茶及药材薄层色谱图

2.5 样品中甘草酸含量测定

2.5.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱: TURNER-YWG-C18柱, (4.6 \times 200mm, 10 μ m), 流动相: 甲醇-1%醋酸水溶液(60:40), 流速: 1mL/min, 柱温: 25 $^{\circ}$ C, 检测波长: 254nm。理论板数按甘草酸铵峰计算应不低于1500。

2.5.2 供试品溶液及对照品溶液的制备 取本品或不含甘草的空白样品约3g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入20mL 70%甲醇,称定重量,加热回流0.5h,放冷,再称定重量,用70%甲醇补足减失的重

量,摇匀,滤过。精密量取续滤液1mL,置10mL量瓶中,用70%甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。取甘草药材1g同法制成甘草药材供试液。精密称取甘草酸单铵盐对照品适量,加甲醇制成每1mL中含57.6 μ g的溶液,即得对照品溶液。

2.5.3 线性关系考察 精密称取甘草酸单铵盐对照品9.6mg,置25mL容量瓶甲醇定容至刻度,精密吸取0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5mL分别至10mL容量瓶用甲醇稀释至刻度,分别精密吸取15 μ L,在上述色谱条件下,注入液相色谱仪,测定。重复2次,测定甘草酸铵的峰面积值,结果见表1。

表1 甘草酸铵对照品溶液线性关系考察

样品	进样浓度(μ g/mL)	甘草酸铵	
		C(μ g)	A
1	19.2	0.2880	273361.5
2	38.4	0.5760	644367.0
3	57.6	0.8685	1018736.0
4	76.8	1.1520	1321500.0
5	96.0	1.4400	1701484.5

以峰面积值和浓度进行回归处理得回归方程: $Y = 18403X - 68124$; 相关系数 $r = 0.9994$; 线性范围 19.2 μ g/mL~96 μ g/mL。

2.5.4 精密度试验 用浓度为57.6 μ g/mL的甘草酸单铵盐对照品溶液连续进样5次,每次15 μ L,结果峰面积差异较小, RSD=1.70%。见表2。

表2 精密度试验

A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	RSD(%)
1045788	1020324	1018890	1049231	1008976	1.70

2.5.5 重复性试验 取本品约3g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入20mL 70%甲醇,称定重量,加热回流0.5h,放冷,再称定重量,用70%甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过。精密量取续滤液1mL,置10mL量瓶中,用70%甲醇稀释至刻度,摇匀,作供试液,平行5份,结果测得含量差异较小,甘草酸铵的平均含量为2.97mg/g ($n = 5$, RSD=1.46%)。见表3。

表3 重复性试验

取样量(g)	2.998	2.934	3.011	3.025	3.087	RSD(%)
含量(mg/g)	2.96	2.95	2.91	3.00	3.02	1.46

2.5.6 稳定性试验 取制剂供试液15 μ L分别于0, 2, 4, 6, 8h进样,测定峰面积计算含量, RSD=0.73%,说明样品稳定性好。见表4。

表 4 稳定性试验

T(h)	0	2	4	6	8	RSD(%)
A	763877	763213	770124	755908	768764	0.73

2.5.7 加样回收试验 取批号为 050312 的样品颗粒约 1.5g(甘草酸单铵盐含量为 0.296%),精密称定,再精密称取 4mg 的标准品,置具塞锥形瓶中,精密加入 20mL 70% 甲醇,称定重量,加热回流 0.5h,放冷,再称定重量,用 70% 甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过。精密量取续滤液 1mL,置 10mL 量瓶中,用 70% 甲醇稀释至刻度,摇匀,即得供试品液,平行 6 份。RSD= 3.78%。见表 5。

表 5 加样回收试验

编号	取样量(g)	甘草酸铵(mg)	测得甘草酸量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	1.502	4	8.281	96.3	99.53	3.78
2	1.497	4	8.255	95.7		
3	1.512	4	8.241	95.4		
4	1.489	4	8.651	104.6		
5	1.520	4	8.615	103.8		
6	1.495	4	8.508	101.4		

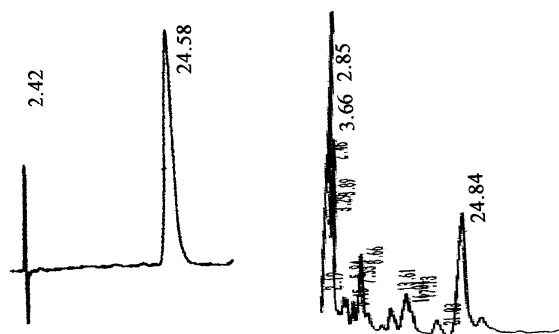
2.5.8 样品含量测定法 分别取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照品溶液各 15 μ L 进样,记录色谱图,由图 2 可见,甘草酸铵保留时间约为 25min,空白溶液在甘草酸铵峰位置处无吸收峰,即本试验条件下甘草酸铵峰与其他组分分离完全。三批样品中甘草酸铵含量见表 6,平均含量为 2.91mg/g。考虑 5% 测定误差,暂定复方桔梗袋泡茶中甘草酸含量应不低于 2.70mg/g。

表 6 样品含量测定(mg/g)

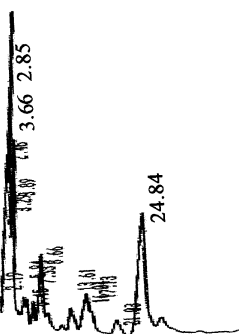
批号	含量	RSD(%)
20050312	2.96	2.45
20040623	2.94	1.88
20050122	2.83	3.42
均值	2.91	

3 讨论

应用 HPLC 测定制剂中甘草酸的含量,按《药典》甘草项下甘草酸的测定方法没有分得甘草酸铵的峰,后经多组流动相比较^[2-4],以文中流动相分离效果较好。在甘草酸含量测定时,对提取时间和所



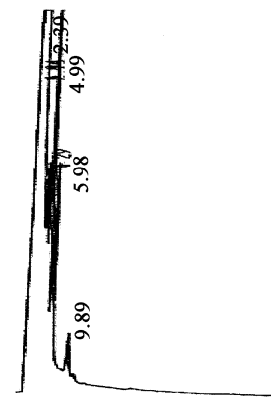
A 甘草酸单铵盐对照品HPLC图谱



B 制剂HPLC图谱



C 甘草药材供试液



D 阴性制剂HPLC图谱

图 2 复方桔梗袋泡茶中甘草酸含量高效液相色谱图

加 70% 甲醇量进行了考察,同一批号 3g 样品加 20mL 70% 甲醇回流 30min 和加 30mL 70% 甲醇回流 60min 做对照,前者测得含量为 2.96mg/g (RSD= 1.5%),后者测得含量为 2.81mg/g (RSD= 1.8%),所以,用前者作为提取条件。

本文建立了复方桔梗袋泡茶中部分药材的定性鉴别方法及方中主药甘草中甘草酸的含量测定方法,可用于控制制剂质量。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部,北京:化学工业出版社,2005. 59, 200, 261, 170, 196.
- [2] 王荣,扬拴喜,胡晓丽,等. 甘草复方制剂中甘草酸单铵盐含量的 HPLC 测定研究[J]. 中国药学杂志,1996,9(3): 548-550.
- [3] 程晓霞,向瑛. 甘草及其制剂中甘草酸单铵盐的定量方法研究概况[J]. 时珍国医国药,2000,11(4): 380-381.
- [4] 林文生,陈浩桢. 高效液相色谱法咽喉舒胶囊中甘草酸单铵盐的含量[J]. 中国现代应用药学杂志,2003,20(4): 294-295.