

归脾片 3 味药材同板薄层色谱鉴别及甘草酸含量测定

徐宇¹, 方鲁延², 彭梦如¹ (1. 四川大学华西药学院, 四川 成都 610041; 2. 四川大学分析测试中心, 四川 成都 610041)

摘要:目的 对归脾片剂 3 味药材的 TLC 同板一次性薄层鉴别, 并对制剂中的指标性成分甘草酸进行 HPLC 建立和含量测定。方法 采用 TLC 对党参、远志、甘草进行同时色谱鉴别, HPLC 测定甘草酸含量。结果 鉴别方法简便快速。甘草酸相关系数 $r = 0.9999$, 回收率为 98.67%, RSD 为 0.54%。结论 建立的方法可有效地控制该片剂的质量。

关键词: 归脾片; 党参; 远志; 甘草; TLC; HPLC

中图分类号: R286; R917.101

文献标识码: A

文章编号: 1007-7693(2003)05-0376-03

The simultaneous TLC identification of three crude drugs & content determination of Glycyrrhizic acid of Guipi tablet

XU Yu¹, FANG Lu-yan², PENG Meng-ru¹ (1. Huaxi Pharmaceutical Sciences, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Analytical and Testing Center of Sichuan University, Chengdu 610041, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To identify the three crude medicinal materials and determine the content of glycyrrhizic acid in Guipi tablet. **METHOD** The simultaneous TLC and HPLC methods were applied to identification and quantitative analysis, respectively.

RESULTS The TLC was simple and rapid method for identification. The HPLC assay was linear over the range of 0.2 - 1.0 mg/mL ($r = 0.999$). The average recovery and the intra-day precision of HPLC were 98.67% and 0.54% (RSD), respectively.

CONCLUSION The methods developed were effective for control the quality of Guipi preparation.

KEY WORDS: Guipi preparation; Radix Codonopsis; Radix Polygalan; Radix Glycyrrhizae; TLC; HPLC

归脾片剂系根据中医理论,以党参、白术为主,辅以远志、甘草等制成的中药制剂,具有益气健脾、养血安神的功效。适用于心脾两虚,气短心悸,失眠多梦,食欲不振。其丸

剂列入中国药典一部和国家基本药物中药制剂品种目录,是常用的中成药之一。为了更简便、快速、准确地控制产品质量,本实验对该制片中的药材定性鉴别进行了色谱条件筛

选,在同一薄层板上鉴别出党参、远志、甘草3种药材。并采用HPLC对该制剂中指标性成分甘草酸进行了方法建立和含量测定。

1 仪器材料

1.1 仪器

日本岛津 LC-9A 高效液相色谱仪;SPD-6AV 紫外可见检测器;SIL-6B 自动进样器;C-R4A 数据处理机;瑞士Buchi 旋转薄膜蒸发器;SB3200 超声波仪。

1.2 材料

硅胶 F₂₅₄ 预制板(青岛 10cm × 20cm, 0.25μm);甘草酸对照品(日本和光纯药工业株式会社含量 99.0%以上);甲醇(色谱纯);党参、远志、甘草药材均由四川大学华西药学院药学教研室王天志教授鉴定;归脾片剂(四川大学华西药学院);其它试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 定性鉴别

2.1.1 样品的制备 取本品制剂粉末 4g,远志、甘草对照品提取物粉末 0.2g,党参对照品提取物粉末 0.1g 以及远志阴性对照品提取物粉末 2g,甘草阴性对照品提取物粉末 2.5g,党参阴性对照品提取物粉末 1.5g,分别加醋酸乙酯 30mL,水 10mL,摇匀,超声波提取 30min,离心 10min,分取醋酸乙酯层,用旋转薄膜蒸发器真空减压浓缩至干,残留物用无水乙醇 2mL 溶解,分别得到制剂供试液,即党参、远志、甘草对照品溶液以及党参、远志、甘草阴性对照品溶液。

取甘草酸对照品加乙醇制成每 1mL 含 1mg 的对照品溶液。

2.1.2 鉴别 取制剂供试液、党参、远志、甘草对照品溶液以及党参、远志、甘草阴性对照品溶液和甘草酸对照品溶液各 5μL 点样于同一硅胶 F₂₅₄ 板上,以醋酸乙酯-甲醇-水-冰醋酸(7:2:1:0.1)的混合溶剂为展开剂,预饱和 15min,展距 12cm,取出,晾干。在紫外灯 UV254nm 下观察供试品色谱与对照品相应的 R_f 值位置约(0.73)显相同色度的暗斑而对应的阴性对照品 R_f 值位置无相同色斑,以此鉴别党参。将此薄层板喷 5% 茴香醛乙醇液-10% 硫酸乙醇液(1:1)混和试液。(临用新配)105℃ 加热数分钟至斑点清晰,供试品色谱与对照品相应的 R_f 值位置(约 0.5)显紫红色斑点,而对应的阴性对照品 R_f 值位置无相同的斑点,以此鉴别远志。在供试品色谱与对照品相应的 R_f 值位置(约 0.6)显黄棕色斑点,而对应的阴性对照品 R_f 值位置无相同的斑点,以此鉴别甘草。见图 1。

2.2 含量测定

2.2.1 供试品、对照品溶液的制备 取本品制剂粉末 2.0g,精密称定,加入稀乙醇 30mL,超声波提取 30min,离心分离(3000r/min)10min,吸取上清液,再用稀乙醇 20mL 分二次洗涤残留物,按上述方法同样操作,合并上清液,定容至 50mL,即为供试品溶液。

取成分含量测定用的甘草酸 50mg,精密称定,用稀乙醇溶解定容至 100mL,再准确量取 10.0mL,稀乙醇定容至

100mL,即得(0.05 mg/mL)甘草酸对照品溶液。

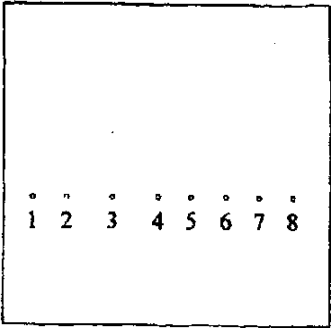


图 1 TLC 图谱

Fig 1 TLC chromatogram

1. 制剂;2. 党参对照品;3. 党参阴性对照品;4. 远志对照品;5. 远志阴性对照品;6. 甘草对照品;7. 甘草阴性对照品;8. 甘草酸对照品

2.2.2 色谱条件 色谱柱:shim-pack CLC ODS(6.0mm × 150mm, 0.5μm);流动相:四甲基氢氧化氨溶液(10→300)-甲醇(36:64)磷酸调 pH6.00;检测波长:254nm;柱温:40℃。

2.2.3 专属性试验 取定性鉴别用的甘草阴性对照品,甘草酸对照品,归脾片,按照“3.1”方法制备样品及上述色谱条件操作,结果表明,甘草酸保留时间内无干扰峰出现。

2.2.4 线性关系考察 精密称取成分含量测定用的甘草酸对照品 50mg,用稀乙醇溶解定容至 50mL,准确量取此液 2, 4, 6, 8, 10.0mL 于 10mL 量瓶中,分别加入稀乙醇稀释至刻度,摇匀,在上述色谱条件下进行线性分析,以浓度为横坐标,峰面积为纵坐标。

得回归方程: $Y = 4501 + 340751x$ $r = 0.9997$

结果表明甘草酸在 0.2~1.0 mg/mL 范围内线性关系良好。

2.2.5 稳定性试验 精密吸取甘草酸对照品溶液(0.05mg/mL)10μL 注入液相色谱仪,每隔 1h 测定 1 次,共测定 8 次(8h),RSD 为 1.20%。

2.2.6 精密度试验 精密吸取对照品溶液(0.05mg/mL)10μL,连续进样 6 次,测定其峰面积,RSD 为 0.94%。

2.2.7 回收试验 精密称取归脾制剂处方中甘草阴性对照品提取物 0.971g,加入甘草酸对照品溶液一定量,按“3.1”中供试品溶液的制备方法同样操作。分别精密量取回收试验供试液和甘草酸对照品溶液 10μL 进样分析。结果见表 1

表 1 回收试验结果

Tab 1 Results of the recovery test

对照品	加入量 (mg)	实测量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
甘草酸	1.598	1.581	98.94	98.67	0.54
	1.598	1.585	99.19		
	1.598	1.575	98.56		
	1.598	1.563	97.81		
	1.598	1.580	98.87		

2.2.8 重现性试验 精密称取同一批号的归脾片(批号 200101)5 份,按“3.1”中供试品溶液的制备方法同样操作。按上述色谱条件进行测定,结果片剂含量平均值为 1.310mg/g, RSD=1.52%(n=5)。

2.2.9 样品测定 取 3 批供试品溶液,按上述色谱条件进

样 10 μ L , 用甘草酸峰面积计算该制剂中指标性成分的含量, 结果见表 2

表 2 测定结果

Tab 2 The contents of glycyrrhizic acid in the samples

对照品	批 号	含量 (mg/ g)	平均含量 (mg/ g)	RSD (%)
甘草酸	200101	1.302	1.297	1.42
		1.277		
		1.313		
		1.282		
	200102	1.295	1.295	0.97
		1.307		
		0.885		
		0.893		
	200103	0.888	0.888	0.49
		0.886		

3 讨论

3.1 在薄层色谱鉴别中, 各药材对照品, 阴性对照品的提取物均与制剂的提取工艺相同, 保证试验的平行性。

3.2 在薄层色谱鉴别中, 党参和远志未找到标准对照品, 所以采用药材提取物作确认斑点的对照。

3.3 制剂产品测定 200103 批号样品实测甘草酸含量偏低。原因分析与购买的甘草生药材中甘草酸含量较低有关。

收稿日期: 2002-03-18