

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.09.011

姜枣祛寒颗粒质量标准研究

宿曼筠, 王友兰, 吴爱英

(山东省青岛市食品药品检验研究院, 山东 青岛 266071)

摘要:目的 建立姜枣祛寒颗粒的质量标准。方法 采用薄层色谱(TLC)法对姜枣祛寒颗粒中的干姜、大枣进行定性鉴别;采用高效液相色谱(HPLC)法测定干姜中6-姜辣素的含量,色谱柱采用 Accurasil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-甲醇-0.1%磷酸溶液(40:5:55),流速为1.0 mL/min,检测波长为280 nm,进样量为10 μL。结果 薄层色谱斑点清晰,阴性对照无干扰。干姜中6-姜辣素进样量在46~578 ng 范围内与峰面积积分值线性关系良好($r=1$);平均回收率为100.58%, RSD为1.78% ($n=6$)。结论 该方法操作简便,专属性高,重复性好,可作为姜枣祛寒颗粒的质量控制方法。

关键词:姜枣祛寒颗粒;质量标准;6-姜辣素;高效液相色谱法;薄层色谱法

中图分类号:R932;R284.1;R286.0

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2019)09-0039-04

Quality Standard of Jiangzao Quhan Granules

SU Manyun, WANG Youlan, WU Aiyang

(Qingdao Research Institute for Food and Drug Control, Qingdao, Shandong, China 266071)

Abstract: Objective To establish the quality standard for Jiangzao Quhan Granules. Methods TLC method was adopted to qualitatively identify *Zingiberis Rhizoma* and *Jujubae Fructus* in Jiangzao Quhan Granules. The content of 6-gingerol in *Zingiberis Rhizoma* was determined by HPLC, the chromatographic column was Accurasil C₁₈ column(250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile-methanol-0.1% phosphoric acid solution(40:5:55), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 280 nm, and the sample size was 10 μL. Results The TLC spots were clear and the negative control had no interference. The 6-gingerol in *Zingiberis Rhizoma* showed good relationship in the range of 46-578 ng($r=1$). The average recovery rate was 100.58%, RSD was 1.78% ($n=6$). Conclusion The method is simple, specific and reproducible, which can be used for the quality control of Jiangzao Quhan Granules.

Key words: Jiangzao Quhan Granules; quality standard; 6-gingerol; HPLC; TLC

姜枣祛寒颗粒由干姜和大枣组方,功效为发散祛寒、和胃温中,用于风寒感冒、胃寒疼痛。现行标准载于《卫生部药品标准·中药成方制剂(第二册)》^[1],其中仅有干姜对照药材的鉴别,且涉及挥发性较大的有害试剂苯及易制毒试剂乙醚。为了更全面地控制该制剂的内在质量,本研究中增加了6-姜辣素对照品及大枣对照药材的薄层色谱(TLC)鉴别,并采用高效液相色谱(HPLC)法对干姜的有效成分6-姜辣素进行了方法学考察和含量测定。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

LC-20AT型高效液相色谱仪(日本岛津公司);BP211D型电子天平(德国Sartorius公司);Auto Science AS10200BT型超声波清洗器(杭州汇尔仪器设备有限公司);ZF7-C型三用紫外分析仪(上海康华生化仪器制造有限公司);Si60型硅胶板默克化工技术<上海>有限公司,批号为HC39961356,规格为10 cm×20 cm)。

1.2 试剂

6-姜辣素对照品(批号为111833-201303),干姜对照药材(批号为120942-201510),大枣对照药材(批号为121040-201408),均购自中国食品药品检定研究

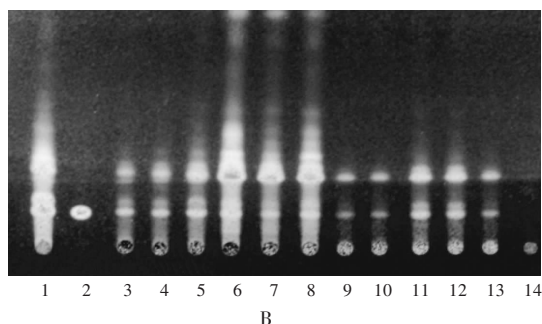
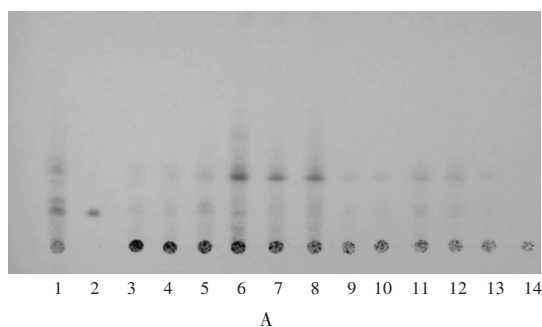
院;姜枣祛寒颗粒(厂家HRSJ、厂家SXHK、厂家ZTJD,共11批,规格为每袋15 g);甲醇、乙腈均为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为娃哈哈纯净水。

2 方法与结果

2.1 TLC鉴别

干姜:取本品5 g,研细,加二氯甲烷-甲醇(2:1)20 mL,超声处理15 min,滤过,滤液浓缩至干,加甲醇1 mL使溶解,作为供试品溶液。另取干姜对照药材0.5 g,同法制备对照药材溶液。再取6-姜辣素对照品,加甲醇制成每1 mL含1 mg的溶液,作为对照品溶液。按处方比例和制法制得不含干姜的样品,按供试品溶液制备方法制得干姜阴性对照溶液。照2015年版《中国药典(四部)》通则0502薄层色谱法试验,分别吸取上述溶液各5 μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以石油醚(60~90℃)-乙酸乙酯-甲醇-冰醋酸(20:3:2:0.4)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,105℃加热至斑点显色清晰,分别置日光及紫外光(365 nm)下检视。供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱和对照品溶液色谱相应位置上,显相同颜色的斑点或荧光斑点,且阴性对照无干扰。结果见图1。

大枣:取大枣对照药材1 g,加水50 mL,煎煮1 h,



1. 对照药材溶液 2. 对照品溶液
3-13. 供试品溶液 14. 阴性对照溶液

A. 日光下 B. 紫外光(365 nm)下

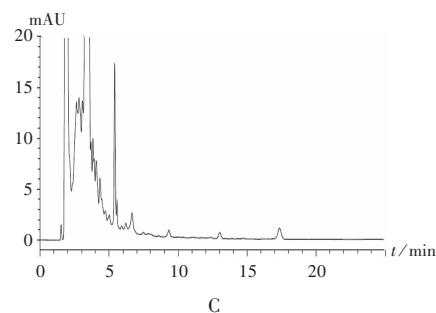
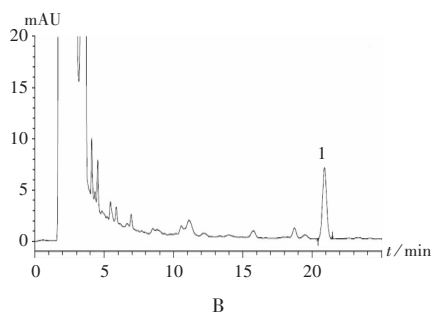
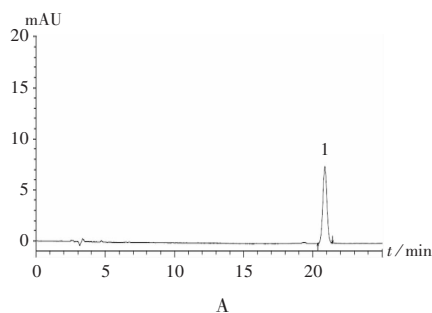
图1 干姜薄层色谱图

实时补充减失的水分,滤过,滤液蒸干,残渣加二氯甲烷-甲醇(2:1)20 mL,按干姜鉴别项下供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。按处方比例和工艺制得不含干姜的样品,按干姜鉴别项下供试品溶液制备方法制得大枣阴性对照溶液。照2015年版《中国药典(四部)》通则0502中TLC法试验,吸取上述溶液各2 μ L,分别点于同一硅胶G薄层板上,以正丁醇-冰醋酸-水(4:1:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以茚三酮试液,105 $^{\circ}$ C加热至斑点显色清晰。供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点,且阴性对照无干扰。结果见图2。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验

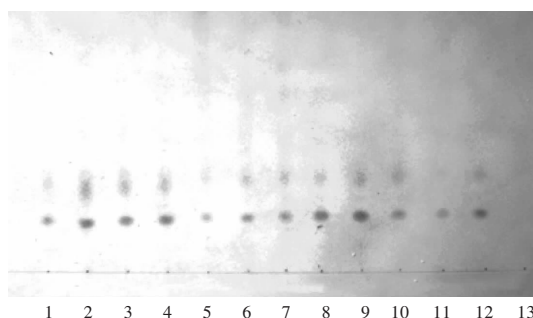
色谱柱:Accurasil C₁₈柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m);



1. 6-姜辣素

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照溶液

图3 高效液相色谱图



1. 对照药材溶液 2-12. 供试品溶液 13. 阴性对照溶液

图2 大枣薄层色谱图

流动相:乙腈-甲醇-0.1%磷酸溶液(40:5:55);检测波长:280 nm;流速:1.0 mL/min;柱温:35 $^{\circ}$ C;进样量:10 μ L。理论板数按6-姜辣素峰计应不低于5 000。

2.2.2 溶液制备

对照品溶液:取6-姜辣素对照品适量,精密称定,加甲醇超声溶解并定容至刻度,混匀,作为对照品贮备液,精密量取1 mL,置10 mL容量瓶中,加甲醇定容至刻度,混匀,即得。

供试品溶液:取样品10袋,倾出内容物,研细,取5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入70%乙醇20 mL,称定质量,超声处理(功率为100 W,频率为40 kHz)20 min,放冷,再称定质量,用70%乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

阴性对照溶液:按处方比例及工艺配制缺干姜的阴性制剂,按供试品溶液制备方法制备,即得。

2.2.3 方法学考察

专属性试验:取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各10 μ L,按拟订色谱条件进样测定。结果在对照品溶液色谱峰相应的保留时间处,阴性对照溶液无色谱峰出现,说明阴性对照无干扰。结果见图3。

线性关系考察:分别精密吸取上述对照品溶液(质量浓度为0.023 1 g/L)2, 5, 10, 15, 25 μ L,按拟订色谱条件进样测定,以进样量(X , μ g)为横坐标、峰面积积分值(Y)为纵坐标进行线性回归,得6-姜辣素回归方程

$Y = 585\,443X - 1\,194.4$, $r = 1$ ($n = 5$)。结果表明,6-姜辣素进样量在46~578 ng 范围内与峰面积积分值线性关系良好。

精密度试验:精密吸取上述对照品溶液10 μ L,按拟订色谱条件重复进样6次,测定峰面积积分值。结果的RSD为0.30% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取样品(批号为150108)适量,依法制备供试品溶液,分别于0,2,8,12,24 h 时进样分析,测定峰面积积分值。结果的RSD为0.38% ($n = 5$),表明供试品溶液在24 h 内稳定性良好。

重复性试验:取样品(批号为150108),依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件重复进样6次,测定。结果平均含量为每袋1.40 mg, RSD 为1.40% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的样品(批号为150108),研细,称取约2.50 g,共6份,精密称定,精密加入对照品溶液(质量浓度为0.0115 g/L)20 mL,依法制备供试品溶液,按拟订色谱条件进样分析,计算加样回收率。结果见表1。

表1 6-姜辣素加样回收试验结果($n = 6$)

取样量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)
2.5059	0.236	0.23	0.472	102.61		
2.5141	0.236	0.23	0.463	98.70		
2.5089	0.236	0.23	0.470	101.74	100.58	1.78
2.5047	0.236	0.23	0.471	102.17		
2.5121	0.236	0.23	0.463	98.70		
2.5047	0.236	0.23	0.465	99.57		

2.2.4 耐用性试验

流动相比比例考察:以乙腈-甲醇-0.1%磷酸溶液为流动相,对流动相的比例稍加调整,进行分析。结果见表2。可见,流动相中乙腈用量减少,6-姜辣素的保留时间有所延长,含量未发生变化,流动相组成比例的适量变化不影响结果。

表2 流动相比比例考察结果($n = 2$)

流动相比比例	保留时间(min)	含量(mg/袋)
38:05:57	22.14	1.41
40:05:55	20.89	1.41
42:05:53	17.52	1.42

色谱柱考察:选用3种不同的色谱柱,按拟订色谱条件进样分析,测定6-姜辣素的峰面积。结果6-姜辣素平均含量为每袋1.42 mg, RSD 为0.70% ($n = 2$),表明不同色谱柱对结果影响较小。

2.2.5 样品含量测定

2.2.2 项下方法制备供试品溶液,依法进样测定,

表3 色谱柱耐用性试验结果($n = 2$)

色谱柱	阴性是否有干扰	理论板数	含量(mg/袋)	RSD(%)
A	否	139075	1.41	
B	否	143215	1.43	0.70
C	否	140214	1.42	

注:A 为 Accurasil C₁₈ 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m), B 为 Venusil MP C₁₈ 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m), C 为 Extend C₁₈ 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)。

表4 各批样品的含量测定结果(mg/袋)

编号	生产企业	批号	6-姜辣素	编号	生产企业	批号	6-姜辣素
1	HRSJ	1403213	0.92	7	ZTJD	151102	0.68
2	HRSJ	1501002	1.44	8	ZTJD	151101	0.63
3	HRSJ	1506001	2.07	9	ZTJD	150108	1.41
4	SXHK	20130301	3.28	10	ZTJD	150107	1.27
5	SXHK	20130302	0.63	11	ZTJD	151105	0.78
6	SXHK	20140101	1.71				

记录峰面积并计算其含量。结果见表4。

3 讨论

3.1 干姜定性鉴别的修订

原标准^[1]中提取溶剂乙醚属易制毒试剂,改用二氯甲烷-甲醇(2:1)提取溶剂毒性较小,且可同时适用于干姜和大枣的鉴别,既简化了操作步骤,又节约了溶剂,因此选用此系统为提取溶剂。原标准使用1 g 对照药材,供试品取样量折算干姜的用量约为0.4 g,结合试验验证结果,将干姜对照药材的用量由原标准的1 g 改为0.5 g。原标准及2015年版《中国药典(一部)》干姜药材TLC 展开剂^{[2]14}使用了毒性较大的苯和三氯甲烷有机试剂,为了遵循绿色环保的理念,经试验比较多个展开系统,以石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)-乙酸乙酯-甲醇-冰醋酸(20:3:2:0.4)为展开剂分离效果良好、试剂毒性较小,随行阴性样品无干扰,故选用此展开剂系统。本研究中对方法的耐用性进行了考察,使用3种不同品牌的硅胶板展开:Si60(默克化工技术有限公司,批号为HC39961356,规格为10 cm $\times$ 20 cm);硅胶G板(青岛海洋化工厂分厂,批号为20161220,规格为200 mm $\times$ 100 mm);自制硅胶G薄层板,取硅胶G(青岛海洋化工厂,化学纯,批号为20161220)加0.5%羧甲基纤维素钠溶液调配,用手动铺板器铺成厚度为0.25 mm 的薄层板,室温晾干,110 $^{\circ}$ C 活化1 h,置硅胶干燥器中备用。供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液和对照品溶液色谱相应位置上,显相同颜色的斑点或荧光斑点,说明方法的专属性、耐用性较好。

3.2 大枣定性鉴别考察

尝试采用2015年版《中国药典(一部)》大枣药材TLC 鉴别方法^{[2]22}发现,本制剂中的阴性对照有干扰;