

新制剂“咳宁”冲剂质量标准研究

王晓强 郭亚健 谢 鸣

(北京中医药大学中药化学教研室 北京 100029)

摘要 建立了“咳宁”冲剂的薄层定性方法,并利用 TLCS 法测定了其中麻黄生物碱的含量,雷氏盐沉淀——酸碱滴定法测定了其中百部总碱的含量。

关键词 咳宁冲剂 TLCS 法 酸碱滴定法 麻黄生物碱 百部生物碱

Qualitative and Quantitative Analysis of a New Preparation Kening Granule

Wang Xiaoqiang, Guo Yajian, Xie Ming

(Beijing University of TCM, Beijing, 100029)

Abstract: A identification method using TLC for a new preparation Kening granule was established. The content of ephedrine was determined by TLCS and the total alkaloid content of Radix Stemona in the granule was estimated with a reinecke salt precipitation-acid-base titration method.

Key words: Kening Granule, TLCS, Acid-Base Titration, Ephedrine, Radix Ste-

monae

“咳宁”冲剂由百部、苦杏仁、芦根、紫苑、僵蚕、乌梅、前胡、蝉蜕、甘草、桔梗、麻黄 11 味中药组成,具有止咳化痰,宣肺利气,疏散邪之功效。文献报道,百部生物碱具有镇咳祛痰、缓解支气管平滑肌痉挛等作用^[1],麻黄生物碱具有镇咳平喘祛痰及拟肾上腺素等作用^[2],二者均为该制剂的主要有效成分。本研究利用百部生物碱能与雷氏铵盐作用产生沉淀,而麻黄生物碱与之不反应的性质,设计建立了该制剂中百部总碱的雷氏盐净化—酸碱滴定测定法,并采用 TLCS 法测定其中麻黄生物碱的含量。经过实验筛选,优选出特征性强,重现性好的百部、麻黄、前胡三药为该制剂的鉴别特征。

1 实验部分

1.1 定性鉴别

1.1.1 仪器与试药 硅胶 G 薄层预制板(青岛海洋化工厂出品);盐酸麻黄碱及盐酸伪麻黄碱对照品购自中国药品生物制品检定所;百部及前胡对照药材由本院中药鉴定教研室提供,经鉴定为直立百部 *Stemona sessilifolia* (Mig) Mig 及对叶百部 *Stemona tuberosa* Lour,白花前胡 *Peucedanum praeruptorum* Dunn 及紫花前胡 *Peucedanum decursivum* Maxim;实验用“咳宁”冲剂样品由本院中药制剂教研室提供,样品所用百部及前胡药材均购自北京市药材公司,经鉴定百部药材为直立百部,其中混有少量的对叶百部,前胡药材主要为紫花前胡,其中混有少量白花前胡;所用试剂均为分析纯。

1.1.2 展开剂系统(S) (Ⅰ)氯仿-甲醇-浓氨水(20:5:0.5);(Ⅱ)醋酸乙酯-甲醇-浓氨水(7:0.25:0.1);(Ⅲ)石油醚(60~90℃)-醋酸乙酯(7:2)。

1.1.3 显色及定位(R) (Ⅰ)0.2%茚三酮乙醇液,喷后于 105℃烘约 4 分钟;(Ⅱ)改良

碘化铋钾;(Ⅲ)UV365nm 下。

1.1.4 供试品溶液制备

1.1.4.1 取冲剂样品 10g,研细,置三角瓶中,加 0.1mol/L HCl 40ml 冷浸过夜,超声提取(280mA)10 分钟,过滤,滤液以饱和 NaOH 调 pH 至 10 左右,以氯仿萃取(40ml×1,20ml×2),合并氯仿液,水浴上回收至小体积,以氯仿转移至 5ml 容量瓶中,并稀释至刻度,作为百部、麻黄鉴识供试液。

1.1.4.2 取冲剂样品 10g,研细,置三角瓶中,加入 20ml 乙醚冷浸过夜,过滤,滤液回收转移至 2ml 容量瓶中,以乙醚稀释至刻度,作为样品中前胡的鉴识供试液。

1.1.5 对照品、阴性及阳性对照液的制备

1.1.5.1 取盐酸麻黄碱及盐酸伪麻黄碱对照品适量,加乙醇制成每 1ml 含 0.5mg 的溶液,作为对照品溶液。

1.1.5.2 取麻黄、百部(对叶百部及直立百部)、前胡(白花前胡及紫花前胡)对照药材适量,按相应供试品溶液制备操作,作为阳性药材对照液。

1.1.5.3 分别取缺麻黄、百部、前胡阴性群药,相应制备阴性对照液。

1.1.6 TLC 鉴识 分别取供试液及相应对照液 4~10μl,点于硅胶 G 薄层预制板(10cm×10cm)上,以相应展开剂展开及显色定位,结果见图 1~3。

1.2 含量测定

1.2.1 麻黄碱与伪麻黄碱之和含量测定

1.2.1.1 仪器与试药 日本岛津 CS-9000 型薄层扫描仪,微量定量点样管(Scientific drummond Co. U. S. A);超声波清洗仪(江苏超声设备厂出品);硅胶 G 薄层预制板(10cm×10cm,青岛海洋化工厂);盐酸麻黄碱对照品购自中国药品生物制品检定所,色谱归一化法测得含量为 99.26%;所用试剂均为分

析纯。

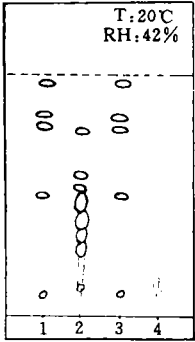


图 1 “咳宁”冲剂中百部 TLC 图

1. 样品供试液 2. 对叶百部药材对照
3. 直立百部药材对照 4. 百部阴性对照

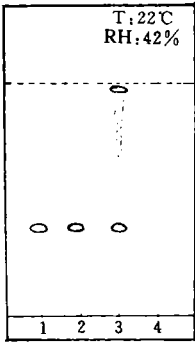


图 2 “咳宁”冲剂中麻黄 TLC 图

1. 样品供试液 2. 盐酸麻黄碱及伪麻黄碱对照品溶液
3. 麻黄药材对照 4. 麻黄阴性对照

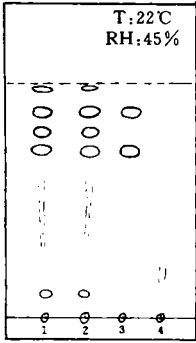


图 3 “咳宁”冲剂中前胡 TLC 图

1. 样品供试液 2. 紫花前胡药材对照
3. 白花前胡药材对照 4. 前胡阴性对照

1.2.1.2 色谱条件 硅胶 G 薄层板, 展开剂: 氯仿-甲醇-浓氨水(7:3:0.1); 显色剂: 0.2%茚三酮乙醇液, 喷后于 105℃烘约 4 分钟, 洁净玻璃板封盖; 测定波长: $\lambda_s = 515\text{nm}$,

$\lambda_R = 415\text{nm}$; 扫描方式: 双波长反射锯齿扫描, $S \times 3$ 。

1.2.1.3 对照品溶液制备 精密称取盐酸麻黄碱对照品适量, 加乙醇制成每 1ml 含 0.5mg 溶液。

1.2.1.4 线性关系考查 精密吸取对照品溶液 1, 2, 3, 4, 5 μl , 点于同一块硅胶薄层板上, 以上述色谱条件展开、显色及测定, 以峰面积为纵坐标, 对照品量为横坐标绘制标准曲线, 其回归方程为 $A = -38889 + 113676m$, $r = 0.9992$, 线性范围为 0.65 ~ 3.25 μg , 可用外标二点法定量。

1.2.1.5 提取条件正交试验 样品液制备: 精密称取样品粉末 5.0g, 加入正交表中量无水乙醇, 冷浸过夜, 超声提取(280mA), 过滤, 滤液水浴上蒸干, 以 0.1mol/L HCl 15ml 完全转移至分液漏斗中, 用浓氨水调 PH 至 10, 氯仿萃取(20ml $\times$ 1, 10ml $\times$ 8), 合并氯仿液, 回收至小体积, 通过中性 Al_2O_3 柱(1.0g, 100 ~ 200 目, $\varnothing 10\text{mm}$), 以氯仿洗脱约 30ml, 回收转移至 5ml 容量瓶中, 定容, 备用。

色谱条件: 麻黄生物碱 $\lambda_s = 515\text{nm}$, $\lambda_R = 415\text{nm}$; 百部生物碱 $\lambda_s = 380\text{nm}$, $\lambda_R = 460\text{nm}$, 吸附剂, 展开剂及显色剂同定性鉴别项下。

表 1 样品中百部生物碱及麻黄碱与伪麻黄碱提取正交试验

试验号	溶剂倍数	超声时间	A 麻黄碱与伪麻黄碱之和	A 百部
1	10	20'	44739	4552
2	10	30'	50040	3693
3	15	20'	38235	23973
4	15	30'	42123	9229
麻黄	K ₁	94779	82974	
	K ₂	80358	92163	
	R	7210.5	4594.5	
百部	K ₁	8245	28528	
	K ₂	33202	12922	
	R	12479	7803	

A 百部为百部生物碱斑点峰面积之和, A 麻黄为麻黄碱与伪麻黄碱斑点峰面积之和

由上表中 R 值及 K 值可看出,样品中麻黄生物碱的最佳提取条件为 10 倍溶剂,超声提取 30 分钟;百部生物碱的最佳提取条件为 15 倍溶剂,超声提取 20 分钟。

1.2.1.6 精密度试验 精密吸取盐酸麻黄碱对照品溶液,在硅胶 G 薄层板上重复点五个 2μl 点,同样品测定项下展开、显色及测定,测得操作精密度及仪器精密度 RSD 分别为 1.86%和 0.80%。

1.2.1.7 稳定性试验 上述 2.1.6 中其中一斑点,每隔一定时间测定一次,结果表明麻黄碱显色后在考察的 2.5h 内基本稳定。

1.2.1.8 回收率试验 精密称取一定量盐酸麻黄碱对照品,加入适量样品粉末中,按样品测定项下操作及测定,并计算回收率,结果见表 2。

1.2.1.9 样品测定 精密吸取供试品溶液 4μl,对照品溶液 1μl、3μl 点于同一块硅胶 G 薄层板上,同线性关系考查项下操作及测定,并以外标二点法计算含量,求得三批样品中麻黄碱与伪麻黄碱之和平均含量分别为 0.0559%,0.0617%,0.0434%。

表 2 回收率测定结果

取样相当于对照品量(mg)	加入量(mg)	测得总量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	2.44	2.53	4.80	96.58	
2	2.47	3.03	5.41	98.36	
3	2.41	3.55	5.80	97.31	98.38
4	2.45	4.01	6.38	98.76	1.68
5	2.44	4.05	6.55	100.90	

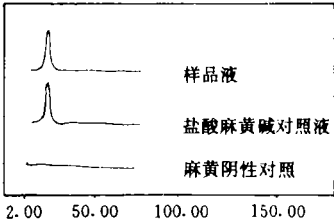


图 4 样品中麻黄碱与伪麻黄碱之和
TLCS 法色谱图

1.2.2 百部总生物碱含量测定

1.2.2.1 仪器与试药 标准酸、碱购自中国

计量院标准物质研究所,其余试剂均为分析纯。

1.2.2.2 空白试验 按处方配制缺麻黄、百部阴性对照,按样品测定项下提取、测定。结果表明阴性不消耗标准酸,说明本方法可行。

1.2.2.3 样品测定 取样品粉末,精密称取 20.00g 两份,分别置于三角瓶中,加入 15 倍量乙醇冷浸,过夜,超声提取(280mA)20 分钟,滤过,残渣及滤纸以少量乙醇洗涤,合并醇液,减压蒸干。一份以 20ml 0.1mol/L HCl 完全转移至分液漏斗中;另一份加入 10ml 0.1mol/L HCl 溶解,再加入 20ml 饱和雷氏铵盐水溶液,冰箱冷藏 2h,滤过至 100ml 分液漏斗中,残渣以少量 0.1mol/L HCl 洗涤,合并。上述二液以饱和 NaOH 水溶液调 PH 为 10,加入少量 NaCl 使之饱和,以氯仿萃取(20ml×1,10ml×8),合并氯仿液,以饱和 NaCl 水溶液洗涤(10ml×3),NaCl 层以氯仿反萃一次,合并氯仿液于水浴上回收至小体积,通过中性 Al₂O₃ 柱(2g,100~200 目,∅10mm),以氯仿洗脱约 30ml,水浴回收氯仿至近干,精密加入 20ml 0.01mol/L H₂SO₄,水浴加热除去其中微量氯仿,加入甲基红指示剂 4 滴,以 0.01mol/L NaOH 滴定至中性(由红变橙黄),二者消耗 H₂SO₄ 摩尔数之差即为 20g 样品中百部总碱的量。测得三批样品中百部总碱含量以百部碱(C₁₇H₂₅O₄N)计分别为 0.0656%,0.0549%,0.0502%。

2 讨论

2.1 曾对本制剂中麻黄碱的 HPLC 测定做过实验探讨,虽也能取得满意的分离效果〔柱:YWG,10μm,4.6mm×250mm;移动相:H₂O-CH₃CN-KH₂PO₄-SDS(500ml:500ml:3.4g:1.7g);检测:254nm〕,但由于盐酸麻黄碱 λ_{max} 为 225nm,在 UV240nm 波长以上吸收减弱,而用国产试剂所配移动相在 UV240nm 以下有较强的吸收,干扰检测。在 UV240nm 以上检测,检测灵敏度大大降低,相比之下,采用 TLCS 法检测灵敏度较

高。

2.2 《中国药典》95版一部收载药材百部有三个品种来源。即对叶百部、直立百部与蔓生百部,这三个品种中共有的生物碱类成分不多^[3],选择某一成分为本制剂的含量测定指标,会给百部原料药材采购带来困难,所以,本标准采用酸碱滴定法测定其中百部总碱含量。

2.3 曾采用混合溶剂浓氨水-乙醇-乙醚(3:10:20)为提取溶剂,发现样品粉末在此溶

剂中成团。提取效率低,不如采用无水乙醇好。

参 考 文 献

1. 黄泰康. 常用中药成分与药理手册. 北京:中国医药科技出版社,1994:820
2. 国家医药管理局中草药情报站. 植物药有效成分手册. 北京:人民卫生出版社,1986:390
3. 徐礼桑,沙世炎. 中草药有效成分分析法. 下册. 北京:人民卫生出版社,1984:122