

## 蒙药沙参止咳汤散质量标准提高研究

王 栋<sup>1,2</sup>, 杨非凡<sup>3</sup>, 郭宝凤<sup>1,2</sup>

(1 内蒙古自治区药品检验研究院, 呼和浩特 010010; 2 内蒙古自治区中蒙药标准研究重点实验室, 呼和浩特 010010; 3 呼和浩特市检验检测中心, 呼和浩特 010010)

**[摘要]** **目的:**对蒙药沙参止咳汤散的质量标准进行完善和提高。**方法:**采用 TLC 法建立拳参、紫草茸的鉴别项,修订甘草鉴别项;采用反相高效液相色谱法建立甘草酸的含量测定项。**结果:**甘草、拳参、紫草茸薄层鉴别方法斑点清晰,阴性对照无干扰;甘草酸在 92.90 ~ 1 161.25 ng ( $r = 1.000 0$ ) 范围内呈良好的线性关系,平均回收率为 102.5%, RSD 为 1.85% ( $n = 9$ )。**结论:**新建的方法简单易行、专属性强、稳定性好、重复性好,可用于沙参止咳汤散的质量评价和控制。

**[关键词]** 沙参止咳汤散; TLC 法; HPLC 法; 质量标准**[中图分类号]** R927.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1003-3734(2023)06-0638-05

## Study on the quality standard of Shashen Zhike Decoction Powder

WANG Dong<sup>1,2</sup>, YANG Fei-fan<sup>3</sup>, GUO Bao-feng<sup>1,2</sup>

(1 Inner Mongolia Autonomous Region Drug Inspection and Research Institute, Hohhot 010010, China; 2 Inner Mongolia Autonomous Region, China-Mongolia Medicine Standard Research Key Laboratory, Hohhot 010010, China; 3 Hohhot Inspection and Testing Center, Hohhot 010010, China)

**[Abstract]** **Objective:** To improve the quality standards of Mongolian medicine Shashen Zhike Decoction Powder. **Methods:** TLC method was used to establish the identification of *Bistortae Rhizoma* and Shikonin, and the identification of *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* was revised. The content determination of glycyrrhizic acid was established by reversed phase HPLC. **Results:** The TLC identification methods resulted in clear spots of *Bistortae Rhizoma*, Shikonin and *Glycyrrhizae Radix Et Rhizoma*, without interference for the negative control. Glycyrrhizic acid had good linear relationship in the range from 92.90 to 1 161.25 ng ( $r = 0.999 9$ ). The average recovery was 102.57%, and the RSD was 1.85% ( $n = 9$ ). **Conclusion:** The method is simple, specific, stable and repeatable, and can be used for the quality evaluation and control of Shashen Zhike Decoction Powder.

**[Key words]** Shashen Zhike Decoction Powder; TLC; HPLC; quality standards

沙参止咳汤散系由北沙参、甘草、紫草茸和拳参

组成的蒙药复方制剂,蒙医临床常用制剂之一,具有清热、止咳、祛痰的功效,用于肺热、咳嗽、多痰、胸背刺痛<sup>[1]</sup>。现行标准收载于原卫生部药品标准蒙药分册<sup>[1]</sup>,检验项目仅有性状、显微鉴别、甘草的 TLC 鉴别和检查项,没有含量测定项。目前沙参止咳汤散质量标准方面的研究较少,高玉峰等<sup>[2]</sup>测定了沙参止咳汤散中甘草苷含量。本文对收集到的 12 批**[基金项目]** 《中华人民共和国药典》药品标准提高:沙参止咳汤散项目(49)**[作者简介]** 王栋,男,副主任中药师,大学本科,主要从事药品标准及质量的研究。E-mail:233419826@qq.com。**[通讯作者]** 郭宝凤,女,副主任药师,硕士研究生,主要从事中蒙药标准及质量的研究。E-mail:guobaofengzf@163.com。

次沙参止咳汤散进行研究,增加拳参、紫草茸的定性鉴别项,优化甘草的定性鉴别项,采用 HPLC 法增加甘草酸的含量测定项,为有效控制沙参止咳汤散质量提供依据。

## 材 料

### 1 仪器

LEICA 型薄层色谱数码成像系统; Thermo Dioxorex U3000 型高效液相色谱仪(美国热电公司); 岛津 LC-20A 型高效液相色谱仪(二极管阵列检测器,日本岛津公司); Sartorius 万分之一电子天平(德国赛多利斯公司); Sartorius ME5 型百万分之一电子天平(德国赛多利斯公司)。

### 2 药材和试剂

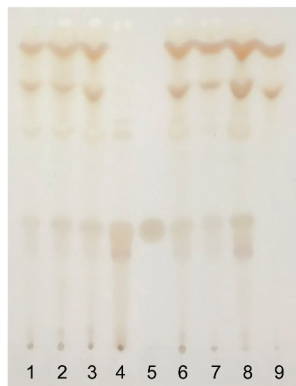
甘草酸铵(批号:110731-201619,纯度:93.0%)、甘草次酸(批号:110723-201514)、没食子酸(批号:110831-201906)、拳参对照药材(批号:121569-201301)、紫草茸对照药材(批号:121052-200302)均由中国食品药品检定研究院提供;12 批次沙参止咳汤散由 3 家生产企业提供;阴性对照样品所用药材由蒙药股份公司提供。硅胶 G 板、硅胶 GF<sub>254</sub> 板和含有 NaOH 溶液的硅胶 G 板均购自青岛海洋化工厂和烟台市化学工业研究所;甲醇、乙腈(美国 Fisher 公司,色谱纯);其他试剂试药均为分析纯;水为超纯水。

## 方法与结果

### 1 TLC 鉴别

#### 1.1 拳参的 TLC 鉴别<sup>[4-5]</sup>

取本品 5 g,加 70% 乙醇 30 mL,加热回流 30 min,滤过,滤液浓缩至 2 mL,加水 5 mL 使溶解,用乙醚振摇提取 2 次,每次 15 mL,合并乙醚液,蒸干,残渣加乙酸乙酯 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取拳参对照药材 0.5 g,同供试品溶液制法制成对照药材溶液。再取没食子酸适量,加无水乙醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液。同时,按沙参止咳汤散的处方比例和生产工艺制成缺拳参阴性样品,再同供试品溶液制法制成阴性对照溶液。分别吸取上述 4 种溶液各 10  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-丙酮-甲酸(6:3:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置于氨蒸气中熏至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照药材色谱和对照品色谱相应位置上,显相同颜色的斑点,阴性无干扰,TLC 图见图 1。

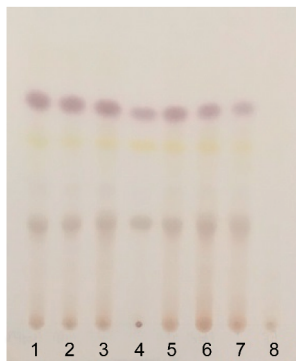


1~3,6~8:供试品溶液的批号分别为 1603047, 1603051,16062117676001,18676001,18676002;  
4:拳参对照药材;5:没食子酸对照品;9:缺拳参阴性对照

图 1 拳参 TLC 鉴别图

#### 1.2 紫草茸的 TLC 鉴别<sup>[6-7]</sup>

取本品 1.5 g,加乙酸乙酯 20 mL 冷浸 12 h,滤过,滤液低温浓缩至约 2 mL,作为供试品溶液。另取紫草茸对照药材 0.5 g,同供试品溶液制法制成对照药材溶液。同时,按沙参止咳汤散的处方比例和生产工艺制成缺紫草茸阴性样品,再同供试品溶液制法制成阴性对照溶液。分别吸取上述 3 种溶液各 10  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(8:1:1)上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位置上,显相同颜色的斑点,阴性无干扰,TLC 图见图 2。



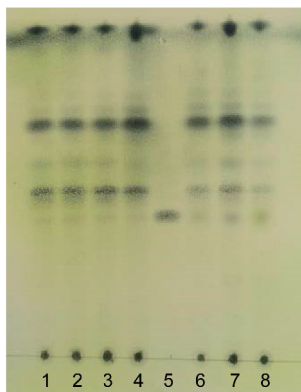
1~3,5~7:供试品溶液的批号分别为 1603047, 1603051,160621,17676001,18676001,18676002;  
4:紫草茸对照药材;8:缺紫草茸阴性对照

图 2 紫草茸 TLC 鉴别图谱

#### 1.3 甘草的 TLC 鉴别<sup>[8-10]</sup>

取本品 5 g,加盐酸 1 mL,三氯甲烷 15 mL,加热回流提取 1 h,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加乙酸乙酯 5 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取甘草次酸对照

适量,加无水乙醇制成每 1 mL 含 2 mg 的溶液,分别吸取上述供试品溶液 5 ~ 10  $\mu$ L,对照品溶液 5  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(30  $^{\circ}$ C ~ 60  $^{\circ}$ C)-甲苯-乙酸乙酯-冰醋酸(5:10:4:0.6)上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位置上,显相同颜色的斑点,TLC 图见图 3。



1 ~ 4, 6 ~ 8: 供试品溶液的批号分别为 1603047, 1603051, 160621, 17676001, 18676001, 18676002;  
5: 甘草次酸对照品

图 3 甘草 TLC 鉴别图谱

## 2 含量测定

### 2.1 色谱条件<sup>[11-13]</sup>

色谱柱为岛津  $C_{18}$  柱(250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m) 和 Waters  $C_{18}$  柱(250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m); 采用乙腈为流动相 A, 0.05% 磷酸溶液为流动相 B; 柱温: 30  $^{\circ}$ C; 检测波长: 252 nm; 进样量: 10  $\mu$ L; 梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0 ~ 8	19	81
8 ~ 35	19 $\rightarrow$ 50	81 $\rightarrow$ 50
35 ~ 36	50 $\rightarrow$ 100	50 $\rightarrow$ 0
36 ~ 40	100 $\rightarrow$ 19	0 $\rightarrow$ 81

### 2.2 溶液的制备

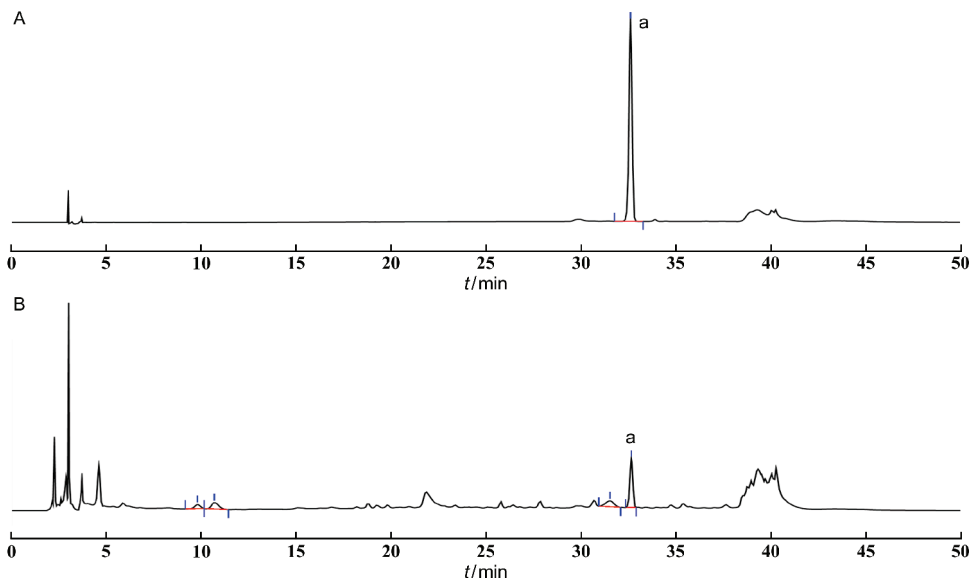
**2.2.1 对照品溶液的制备** 取甘草酸铵( $C_{42}H_{65}NO_{16}$ )对照品适量,精密称定,加 70% 乙醇制成每 1 mL 含 50  $\mu$ g 的溶液,即得(甘草酸重量 = 甘草酸铵重量/1.0207)。

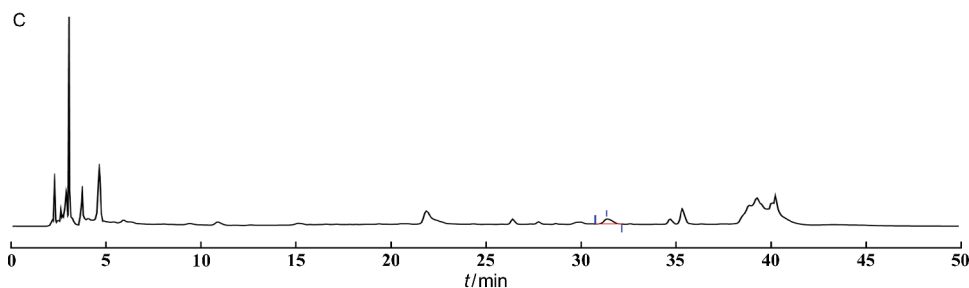
**2.2.2 供试品溶液的制备** 取本品约 1 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 70% 乙醇 100 mL,称定重量,超声处理(功率 250 w,频率 40 kHz)30 min,放冷,再称定重量,用 70% 乙醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

**2.2.3 阴性样品溶液的制备** 按沙参止咳汤散处方比例及制备工艺,制得缺甘草的阴性对照样品,按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。

### 2.3 专属性实验

分别吸取“2.2”项下的 3 种溶液,按“2.1”项下色谱条件注入高效液相色谱仪。供试品色谱中,在与甘草酸对照品色谱峰保留时间相应的位置上出现色谱峰,且分离度好(分离度均  $> 1.5$ ),阴性对照在与对照品色谱相应的位置上未出现色谱峰,表明处方中其他药味对测定没有干扰,该方法专属性好。理论板数按甘草酸峰计不低于 5 000。HPLC 图见图 4。





A:对照品;B:供试品;C:缺甘草阴性样品;a:甘草酸峰

图4 甘草酸的HPLC图

#### 2.4 线性关系考察

取甘草酸铵对照品 2.549 mg,置于 50 mL 量瓶中,加 70% 乙醇使溶解,并稀释至刻度,摇匀,精密吸取 2, 5, 10, 20, 25  $\mu\text{L}$  注入液相色谱仪,按“2.1”项下色谱条件测定,以峰面积对进样量进行回归分析,回归方程为  $Y = 117.74X - 0.002$  ( $r = 1.0000$ ),甘草酸在 92.90 ~ 1161.25 ng 范围内呈良好的线性关系。

#### 2.5 精密度实验

精密吸取对照品溶液 10  $\mu\text{L}$ ,按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次。甘草酸峰峰面积的 RSD 为 0.16% ( $n = 6$ ),表明仪器精密度良好。

#### 2.6 重复性实验

取同一批号供试品(批号:1603047)6份,各约 1 g,精密称定,分别按“2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进行测定,以外标法计算甘草酸含量。平均含量为  $5.21 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,RSD 为

0.59% ( $n = 6$ ),表明方法重复性良好。

#### 2.7 稳定性实验

取同一供试品溶液(批号:1603047),按“2.1”项下色谱条件分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 进行测定,甘草酸峰的峰面积的 RSD 为 0.62%,表明供试品溶液制备后甘草酸在 24 h 内稳定。

#### 2.8 准确度实验

取同一批号供试品(批号:1603047,含甘草酸  $5.21 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )9份,各约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,分别精密加入甘草酸铵对照品溶液(取甘草酸铵对照品 28.142 mg,置于 100 mL 量瓶中,加 70% 乙醇使溶解并稀释至刻度,摇匀,即得)。分别按“2.2”项下方法制备供试品溶液 5, 5, 5, 10, 10, 10, 15, 15 和 15 mL,按“2.1”项下色谱条件进行测定,计算加样回收率。沙参止咳汤散中甘草酸平均回收率为 102.52%,RSD 为 1.85% ( $n = 9$ ),表明该方法具有良好的准确度,方法可行,结果详见表 2。

表2 甘草酸加样回收实验结果

取样量/g	样品含有量/mg	测得总量/mg	甘草酸加入量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
0.518 6	2.702	4.036	1.282	104.08	102.52	1.85
0.523 8	2.729	4.013	1.282	100.13		
0.525 1	2.736	4.033	1.282	101.15		
0.524 6	2.733	5.400	2.564	104.02		
0.514 0	2.678	5.274	2.564	101.24		
0.527 4	2.748	5.427	2.564	104.51		
0.524 9	2.735	6.790	3.846	105.44		
0.521 6	2.718	6.683	3.846	103.10		
0.528 2	2.752	6.705	3.846	102.80		
0.518 6	2.702	4.036	1.282	104.08		

#### 2.9 样品测定结果

取 12 批次样品,按“2.2”项下供试品溶液制备法处理,再按“2.1”项下色谱条件进样测定并计

算含量。沙参止咳汤散中甘草酸含量在  $3.988 \sim 5.532 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  之间,平均含量为  $4.696 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,结果见表 3。

表3 样品中甘草酸含量测定结果

mg·g<sup>-1</sup>, n=2

批号	含量	批号	含量
18676001	4.007	2003061	4.250
18676002	4.066	2003062	4.270
17676001	4.048	160621	4.499
1603047	5.314	190791	5.356
1603051	5.328	191232	5.530
2003060	4.292	200333	5.396

## 讨 论

本研究对各 TLC 鉴别法均进行了对温度、湿度、薄层板耐用性考察,结果显示在不同条件情况下均能达到很好的分离效果。

参照文献<sup>[8-10]</sup>,针对原标准中甘草次酸 TCL 鉴别,在实验过程中将展开剂中毒性较大的“苯”替换成“甲苯”,同时对点样量进行了调整,改进后分离效果好,斑点清晰。

拳参的 TLC 鉴别中对比碘熏和氨熏 2 种显色方法,其中碘熏时间需要 2 h 以上斑点才清晰,氨熏 15 min 后斑点清晰,故选择显色方法为氨熏。

关于含量测定,参照文献<sup>[14-18]</sup>及《中华人民共和国药典》2020 年版一部甘草项下,拟以甘草苷(C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>O<sub>9</sub>)、甘草酸(C<sub>42</sub>H<sub>62</sub>O<sub>16</sub>)为指标成分进行含量测定,经实验研究,供试品中甘草苷色谱峰与相邻峰分离度 < 1.5,阴性样品在甘草苷色谱峰处有干扰峰,更换不同厂家色谱柱和调整色谱条件后分离度仍然 < 1.5,且甘草苷的含量明显小于甘草酸,故仅以甘草酸为指标建立含量测定项。

沙参止咳汤散的处方工艺为原粉入药,本研究测得的 12 批沙参止咳汤散中甘草酸平均含量为 4.696 mg·g<sup>-1</sup>,通过测定生产企业提供的甘草药材,计算得到转移率为 74.43%。

## [ 参 考 文 献 ]

- [1] 原卫生部. 中华人民共和国卫生部药品标准[S]. 蒙药分册. 化学工业出版社, 1998:113.
- [2] 高玉峰, 巴图德力根, 青玉, 等. RP-HPLC 法测定沙参止咳汤散中甘草苷含量[J]. 中国中医药科技, 2010, 17(3): 232 - 233.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 2020 年版. 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [4] 梁莹莹, 张淑君, 赫军, 等. 痛块消口服液的质量标准研究[J]. 中国药房, 2017, 28(3): 374 - 376.
- [5] 于凤蕊, 林林, 穆向荣, 等. 拳参与其易混淆品的鉴别研究[J]. 时珍国医国药, 2020, 31(10): 2408 - 2411.
- [6] 卫生部. 中华人民共和国卫生部药品标准[S]. 藏药第一册. 化学工业出版社, 1995.
- [7] 王敏, 布仁, 陈建平, 等. 蒙药乌兰三味汤散质量标准的研究[J]. 中成药, 2019, 41(4): 892 - 895.
- [8] 刘应蛟, 曾晓艳, 赵昱博, 等. 乌拉尔甘草 HPLC 指纹图谱建立及甘草苷和甘草酸的含量测定[J]. 中国药师, 2021, 24(4): 738 - 741.
- [9] 陈美红, 陈建华, 龙凤来. 八珍片的甘草薄层鉴别方法对比研究[J]. 产业与科技论坛, 2017, 16(24): 72 - 73.
- [10] 陈建蓉, 吴佳佳, 马春芳, 等. 益母生化制剂中甘草成分的薄层鉴别[J]. 宁夏农林科技, 2020, 61(3): 60 - 62, F0002, F0003.
- [11] 刘鹤, 贺丹彤, 邢春来, 等. 甘姜苓术汤 HPLC 指纹图谱及含量测定方法的建立[J]. 药物分析杂志, 2021, 41(1): 42 - 50.
- [12] 曲玉霞, 曹一佳, 杨天歌, 等. 高效液相色谱法测定四臣止咳颗粒中 6 种成分的含量[J]. 中南药学, 2020, 18(10): 1698 - 1701.
- [13] 于妮娜, 张玲. 薄层色谱法鉴别归芪养血益气口服液甘草的研究[J]. 现代中医药, 2016, 36(4): 80 - 81.
- [14] 靳雪飞, 何云娇, 张杰, 等. HPLC 法同时测定甘草中 3 种成分[J]. 中成药, 2020, 42(10): 2786 - 2788.
- [15] 徐锦娟, 章娟娟, 黄鸯鸯. HPLC 法同时测定宝咳宁颗粒中 8 个成分的含量[J]. 中国药师, 2021, 24(7): 402 - 405.
- [16] 冯丽华, 梁淑娟. HPLC 法测定桂附理中丸中甘草苷的含量[J]. 广东化工, 2020, 47(17): 178 - 179, 175.
- [17] 王彦帅, 丁浩强, 郑鑫杰, 等. 经典名方泻白散物质基准 HPLC 指纹图谱的建立及 3 种指标成分含量测定[J]. 中草药, 2020, 51(11): 2946 - 2953.
- [18] 朱映黎, 刘磊, 张建军, 等. 高效液相色谱法测定鹿胎丹参白芍颗粒中葛根素、芍药苷及丹酚酸 B 含量[J]. 世界中医药, 2022, 17(22): 3139 - 3142.

编辑:刘卓越/接受日期:2022-06-24