

银翘解毒颗粒的质量标准研究

卢 绵, 罗 杰, 欧阳惠芳, 江丽苹, 冯盛威(广州白云山和记黄埔中药有限公司, 广东 广州 510515)

摘要:目的 制定银翘解毒颗粒的质量标准。方法 采用薄层色谱法对方中的金银花进行定性鉴别;采用反相高效液相色谱法测定金银花中绿原酸。结果 薄层色谱鉴别特征明显,专属性强;绿原酸分别在 0.077~1.03 μg 与峰面积有良好的线性关系($r=1$),平均回收率 99.9%,RSD 为 2.7%。结论 建立了银翘解毒颗粒的质量标准,定性和定量方法简单、可靠。

关键词:银翘解毒颗粒;金银花;TLC;绿原酸;HPLC

中图分类号:R284.1 文献标识码:A 文章编号:1673-4254(2010)04-0926-02

银翘解毒颗粒收载于《中国药典》2005 年版一部,由金银花,连翘,薄荷等九味中药制成,具有疏风解表,清热解毒的功效^[1]。原标准只收载薄层色谱鉴别,缺乏量化指标。本实验对该标准进行提高,对银翘解毒颗粒增加金银花的薄层鉴别,同时还采用反相高效液相色谱法测定样品中绿原酸。提高后的质量标准方法操作简便,结果准确适合作为法定质量标准。

1 材料

1.1 仪器

美国安捷伦 Agilent 1200 高效液相仪,VWD 检测器;Dionex p680 高效液相仪,DAD 检测器;日本 AND GR-200 电子天平;SB25-12DTD 超声清洗仪(功率 250 w, 频率 40 khz);紫外光灯 MODEL CC-80/F(美国)。

1.2 试剂

硅胶 H(批号 051007)青岛海洋化工厂生产,自制板规格 10 mm×20 mm×0.5 mm。甲醇为色谱纯,美国天地牌;水为重蒸水;其它为分析纯。金银花对照药材(批号 121060-200504)购于中国药品生物制品检定所;绿原酸对照品(批号 110753-200212)购于中国药品生物。

2 方法与结果

2.1 金银花的薄层色谱鉴别

取本品 5 g,研细,加乙醇 20 ml,加热回流 1 h,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加乙醇 2 ml 使溶解,滤过,滤液作为供试品溶液。取金银花对照药材 0.5 g,加乙醇 20 ml,加热回流 0.5 h,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加乙醇 2 ml 使溶解,滤过,滤液作为对照药材溶液。另取绿原酸对照品,加甲醇制成每 1 ml 含 0.5 mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(附录 B)试

验,吸取上述三种溶液各 5 μl ,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 H 薄层板上,乙酸丁酯-甲酸-水(7:2.5:2.5)为展开剂^[1],展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱和对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,且阴性对照无干扰(图 1)。

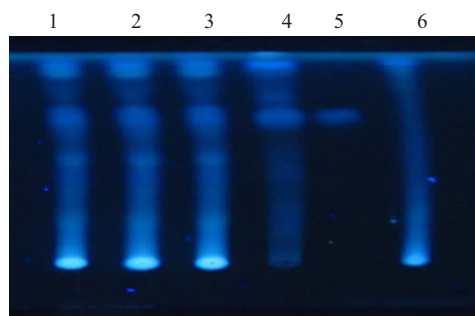


图 1 金银花薄层色谱图

1~3:供试品 080803 4:金银花对照药材 5:绿原酸对照品 6:缺金银花阴性对照

2.2 HPLC 方法的建立

2.2.1 色谱条件 色谱柱为伊利特 C18 (250 mm×4.60 mm, 5 μm);以乙腈-0.3%磷酸溶液(9:91)为流动相;流速为 1.0 ml/min;检测波长为 327 nm,进样量为 10 μl 。理论板数按绿原酸峰计算应不低于 3000。

2.2.2 对照品溶液的制备 取绿原酸对照品适量,精密称定,置棕色量瓶中,加 50%甲醇制成每 1 ml 含 25 μg 的溶液^[3],即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 取装量差异项下的本品,研细,取约 0.7 g,精密称定,置具塞三角瓶中,精密加入 50%甲醇 50 ml,超声处理(功率 250 W,频率 40 kHz) 10 min,放冷,用 50%甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.4 阴性对照溶液的制备 按处方及制法制成缺金银花的阴性对照样品。取相当于供试品的量,按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。

2.2.5 专属性试验 分别取样品、对照药材与阴性对照样品适量,按拟定的含量方法进行测定,结果阴性对照溶液无干扰(图 2)。

收稿日期:2009-10-25

作者简介:卢 绵(1971-),女,本科,主管中药师,从事中药材及中成药质量评估分析研究工作,联系电话:020-87100400,E-mail:lumian@813.com

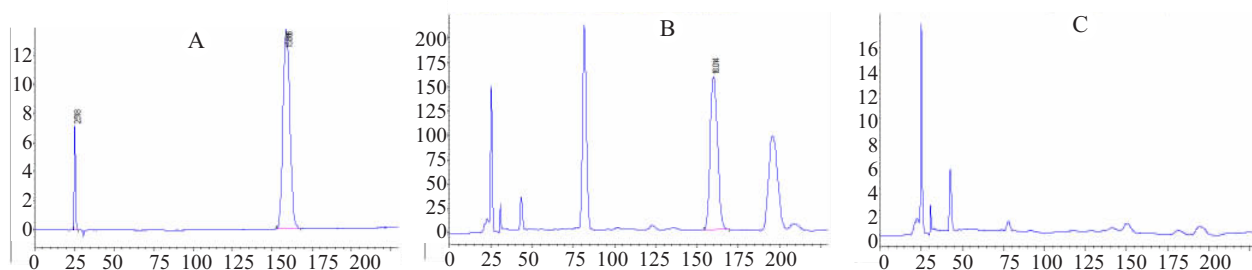


图2 阴性对照试验 HPLC 图

A: 绿原酸对照品图谱; B: 供试品图谱; C: 缺金银花阴性对照图谱

2.2.6 线性关系考察 以绿原酸对照品溶液 (浓度为 0.02576 mg/ml) 分别进样 3、10、15、25、35、40 μ l, 按试验方法测定, 以含量(μ g)为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 得绿原酸的回归方程: $Y=0.0004X-0.0011$, $r=1$ 。结果表明, 绿原酸进样量在 0.077~1.03 μ g 的范围内, 其进样量与峰面积呈良好的线性关系。

2.2.7 精密度试验 精密吸取供试品溶液, 重复进样 6 次, 测得绿原酸峰面积 362.9, 366.1, 365.5, 368.3, 370.2, 371.8, 计算得其 $RSD=0.9\%$ 。

2.2.8 稳定性试验 取同一批银翘解毒颗粒按测定方法, 每隔 2 h 测定 1 次, 连续 6 次, 结果表明: 供试品溶液在制备 10 h 内测定基本稳定。

2.2.9 重复性试验 取同一批供试品 6 份, 分别按测定方法制备供试液并测定, 计算得样品的绿原酸含量为 18.09, 18.12, 18.07, 18.15, 18.05, 18.14 mg/袋, $RSD=0.22\%$ 。结果样品具有良好的重复性。

2.2.10 回收率试验 取已知含量银翘解毒颗粒的供试品 6 份, 每份取样量为供试品取样量 (0.7 g) 的 50%, 精密称定。以当前取样含量的 1:1, 分别精密加入绿原酸对照品 (0.3612 mg/ml) 1 ml, 按含量测定方法测定, 计算绿原酸的回收率。结果本方法绿原酸平均回收率为 99.9%, $RSD=2.7\%$ (表 1)。

表1 回收率试验结果

序号	供试品 取样量(g)	供试品 含量(mg)	对照品 加入量(mg)	测定结果 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1	0.3539	0.4282		0.7968	102.05		
2	0.3561	0.4309		0.7893	99.23		
3	0.3662	0.4431	0.3612	0.7873	95.29	99.9	2.7
4	0.3529	0.4270		0.7975	102.57		
5	0.3384	0.4095		0.7671	99.00		
6	0.3635	0.4398		0.8054	101.21		

2.2.11 样品测定 取批号分别为 0801001, 0801002, 0801003, 0801004 的 4 批样品, 按上述条件, 供试品溶液和浓度为 0.02567 mg/ml 的对照品溶液分别进

样 10 μ l, 测定峰面积, 计算含量。结果每袋绿原酸的含量($n=3$)分别为 17.03, 12.03, 13.02, 14.98 mg; RSD 分别为 1.0%, 0.9%, 1.1%, 1.0%, 1.2%。根据 4 批样品测定结果, 规定本品每袋含绿原酸不得少于 10.0 mg。

3 讨论

曾采用 A: 乙酸乙酯 - 甲酸 - 水 (10:2:3)、B: 乙酸丁酯 - 甲酸 - 水 (7:2.5:2.5) 的上层液为展开剂进行比较, 结果 B 的分离度好, 重现性好。

参照《中国药典》2005 版一部中的银翘解毒胶囊^[1] 的绿原酸含量测定和金银花药材及其它参考文献^[2-6] 的含量测定中所用的流动相: 甲醇 - 水 - 冰醋酸 - 三乙胺 (18:85:1:0.3) 和乙腈 - 0.3% 磷酸 (13:87)。二种流动相对绿原酸色谱峰均能达到基线分离、拖尾因子、分离度、理论塔版数均能达到要求。但流动相甲醇 - 水 - 冰醋酸 - 三乙胺采用四元溶剂, 其中有碱性溶剂三乙胺, 三乙胺减少色谱柱的寿命。流动相乙腈 - 0.3% 磷酸 (13:87) 使用三元溶剂, 相比四元流动相可减少成本, 减少环境污染等, 因此采用乙腈 - 0.3% 磷酸 (13:87) 为流动相。经二相的优化试验, 乙腈 - 0.3% 磷酸二相的比例为 (9:91)。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中国药典, 一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 602, 603.
- [2] 国家药典委员会. 中国药典, 一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 152.
- [3] 国家药典委员会. 中国药典, 一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 334.
- [4] 李成网. 高效液相色谱法测定银翘解毒颗粒中绿原酸的含量. 中国实验方剂学杂志, 2004, 10(5): 3.
- [5] 赵润琴, 方东军, 马 旭. HPLC 法测定银翘解毒颗粒中绿原酸的含量[J]. 中医学报, 2004, 32(5): 31.
- [6] 刘怀远. 反相高效液相色谱法测定银翘解毒颗粒中绿原酸的含量[J]. 中外医疗, 2008, 27(25): 134.