

## 猴耳环消炎颗粒质量标准

彭亮, 李诒光\*, 陈杰\*, 饶毅, 魏惠珍, 眭荣春  
(江西中医药大学, 南昌 330006)

**[摘要]** **目的:**研究建立控制猴耳环消炎颗粒的质量标准。**方法:**采用TLC对猴耳环消炎颗粒中没食子酸进行定性鉴别;采用高效液相色谱法对猴耳环消炎颗粒中没食子酸和槲皮素进行定量测定, Odyssil C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-0.2%磷酸溶液, 进行梯度洗脱, 流速1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温30℃, 检测波长254 nm, 进样量5 μL。**结果:**薄层斑点清晰, 分离效果好;没食子酸在0.060 2~1.806 μg线性良好( $r=0.999\ 5$ ), 平均回收率99.88%, RSD 1.8%;槲皮素在0.016 9~0.507 6 μg线性良好( $r=0.999\ 6$ ), 平均回收率为100.24%, RSD 1.9%。**结论:**建立的方法简便可行、准确, 可为猴耳环消炎颗粒的质量控制提供依据。

**[关键词]** 猴耳环消炎颗粒; 质量标准; 薄层色谱; 高效液相色谱; 没食子酸; 槲皮素

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)14-0059-03

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015140059

**Quality Standard for Houerhuan Anti-inflammation Granule** PENG Liang, LI Yi-guang\*, CHEN Jie\*, RAO Yi, WEI Hui-zhen, SUI Rong-chun (Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish the quality standard for Houerhuan anti-inflammation granule. **Method:** The gallic acid was qualitative identified by TLC, the contents of gallic acid and quercetin were determined by HPLC. HPLC was performed on Odyssil C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), gradiently eluting with acetonitrile as mobile phase A, and 0.2% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> as mobile phase B at a flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. The column temperature was 30℃. The detection wavelength was at 254 nm. The injection volume was 5 μL. **Result:** TLC spots were clear, separation effect was good. The linearity of gallic acid was good in the range of 0.060 2-1.806 μg ( $r=0.999\ 5$ ), and the average recovery was 99.88% (RSD 1.8%). The linearity of quercetin was good in the range of 0.016 9-0.507 6 μg ( $r=0.999\ 6$ ), and the average recovery was 100.24% (RSD 1.9%). **Conclusion:** The established method is simple, accurate and provides reference for quality control of Houerhuan anti-inflammation granule.

**[Key words]** Houerhuan anti-inflammation granule; quality standard; TLC; HPLC; gallic acid; quercetin

猴耳环为豆科植物猴耳环干燥略带小枝的叶, 具有清热解毒、凉血消肿、收湿敛疮、止泻等作用<sup>[1]</sup>, 民间常用于治疗疮及化脓性伤口、湿疹等, 去腐生新功效独特<sup>[2]</sup>。猴耳环单方制剂猴耳环消炎颗粒, 用于上呼吸道感染、急性咽喉炎、急性扁桃体炎等。现代研究表明猴耳环主要含有黄酮类、酚酸类等成分, 如没食子酸、槲皮素等<sup>[3-4]</sup>。其中, 没食

子酸具有抗菌、抗病毒等作用;槲皮素具有祛痰、止咳、消炎镇痛等作用<sup>[5-6]</sup>, 与猴耳环消炎颗粒的药理作用相同, 是其主要有效成分<sup>[7]</sup>。目前, 尚没有对猴耳环消炎颗粒进行质量标准研究的文献报道。本文建立了猴耳环消炎颗粒中没食子酸的薄层鉴别方法, 并采用高效液相色谱法建立了同时测定猴耳环消炎颗粒中没食子酸和槲皮素的方法, 为猴耳环消

**[收稿日期]** 20141017(003)

**[第一作者]** 彭亮, 在读硕士, 从事中药质量控制研究, Tel:15079048763, E-mail:602982740@qq.com

**[通讯作者]** \*李诒光, 博士, 主任中药师, 从事中药质量评价与开发研究, Tel:15979019136, E-mail:lyg@jzjt.com;

\*陈杰, 硕士, 副教授, 从事中药质量评价与开发研究, Tel:15979019631, E-mail:813680107@qq.com

炎颗粒质量标准的完善提供参考。

## 1 材料

1100 系列高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司,包括 G1379A 在线真空脱气机,G1311A 四元泵,G1367A 自动进样器,G1316A 柱温箱和 G1315B DAD 检测器),AB204-N 型精密分析天平(Mettler Toledo)。

猴耳环消炎颗粒(江西杏林白马药业有限公司,规格 6 g × 6 袋;广州莱泰制药有限公司,规格 5 g × 9 袋)。没食子酸、槲皮素对照品(批号 110831-201204,100081-200907,中国食品药品检定研究院),薄层色谱用硅胶 G(青岛海洋化工厂)。乙腈为色谱纯,水为娃哈哈饮用纯净水,甲醇等其他试剂均为分析纯。

## 2 没食子酸的薄层鉴别

取本品粉末 2 g,加水 100 mL,回流提取 30 min,滤过,滤液用乙酸乙酯振摇提取 2 次,每次 30 mL,合并乙酸乙酯液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取没食子酸对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 5 mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B)试验,吸取上述供试品溶液和对照品溶液各 2 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-甲酸乙酯-甲酸(5:5:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 三氯化铝溶液,于 105 °C 烘约 5 min,置紫外光灯(254 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。

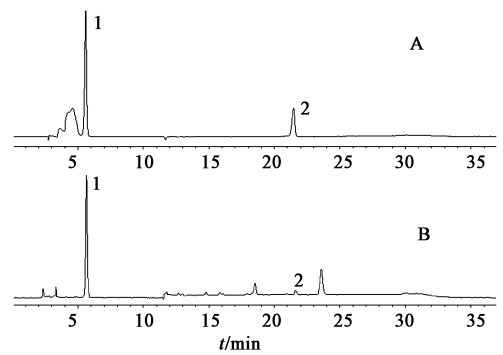
## 3 没食子酸和槲皮素定量测定

**3.1 对照品溶液的制备** 取没食子酸、槲皮素对照品适量,精密称定,加甲醇溶解制成混合对照品溶液(含没食子酸 0.060 2 g·L<sup>-1</sup>和槲皮素 0.016 9 g·L<sup>-1</sup>)。

**3.2 供试品溶液的制备** 取猴耳环消炎颗粒约 1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 乙醇 50 mL,称定质量,回流提取 1.5 h,放冷,再称定质量,用 50% 乙醇补足减失的质量,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,取滤液,即得。

**3.3 色谱条件与系统适应性试验** Odyssil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm),以乙腈(A)-0.2% 磷酸水溶液(B)为流动相梯度洗脱(0~7 min,8% A;7~17 min,8%~24% A;17~27 min,24%~27% A;27~32 min,27%~8% A;32~37 min,8% A),流速为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 30 °C,检测波长 254 nm,进样量 5 μL。结果表明,混合对照品溶液和供试品溶

液的色谱图中没食子酸、槲皮素色谱峰无拖尾,分离度良好,见图 1。



A. 混合对照品;B. 供试品;1. 没食子酸;2. 槲皮素

图 1 猴耳环消炎颗粒 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatogram of Houerhuan anti-inflammation granule

**3.4 线性关系考察** 精密吸取混合对照品溶液 1, 5, 10, 20, 30 μL 注入液相色谱仪中,按上述色谱条件测定,记录色谱图。以峰面积为纵坐标 Y,对照品进样量(μg)为横坐标 X,绘制标准曲线,并进行线性回归。得没食子酸、槲皮素回归方程分别为  $Y = 623.09X + 73.146$  ( $r = 0.9995$ ) 和  $Y = 755.66X + 4.4675$  ( $r = 0.9996$ ),结果表明没食子酸、槲皮素进样量分别在 0.060 2 ~ 1.806, 0.016 9 ~ 0.507 6 μg 与峰面积有良好线性关系。

**3.5 精密度试验** 取 3.1 项下的混合对照品溶液连续进样 6 次,每次 5 μL,按 3.3 项下色谱条件测定峰面积,没食子酸、槲皮素的峰面积 RSD 分别为 0.8%, 1.1%;表明该方法精密度良好。

**3.6 稳定性试验** 取猴耳环消炎颗粒(批号 20130405),按 3.2 项下方法制备供试品溶液,分别在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 精密吸取 5 μL 注入液相色谱仪,按 3.3 项下色谱条件测定。结果没食子酸、槲皮素峰面积的 RSD 分别为 0.7%, 1.5%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

**3.7 重复性试验** 取猴耳环消炎颗粒(批号 20130405) 6 份,按 3.2 项下方法制备供试品溶液,按 3.3 项下色谱条件测定。结果没食子酸、槲皮素的平均质量分数为 11.63, 0.29 mg·g<sup>-1</sup>, RSD 分别为 0.4%, 1.4%,表明该方法重复性良好。

**3.8 加样回收率试验** 取已知含量猴耳环消炎颗粒(批号 20130405)约 0.5 g,共 6 份,精密称定。分别精密加入一定量的没食子酸对照品和槲皮素对照品,按 3.2 项下方法制备供试品溶液,按 3.3 项下色谱条件测定,计算回收率,结果见表 2。

表 2 没食子酸和槲皮素加样回收率试验

Table 2 Recovery test results of gallic acid and quercetin

成分	取样量/g	样品中量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
没食子酸	0.505 9	5.884	5.768	11.781	102.22	99.88	1.8
	0.503 4	5.855	5.768	11.633	100.18		
	0.510 3	5.935	5.768	11.597	98.17		
	0.507 8	5.906	5.768	11.615	98.98		
	0.506 4	5.889	5.768	11.543	98.02		
	0.511 2	5.945	5.768	11.810	101.68		
槲皮素	0.505 9	0.147	0.137	0.286	101.67	100.24	1.9
	0.503 4	0.146	0.137	0.284	100.74		
	0.510 3	0.148	0.137	0.282	97.82		
	0.507 8	0.147	0.137	0.288	102.73		
	0.506 4	0.147	0.137	0.284	100.11		
	0.511 2	0.148	0.137	0.283	98.36		

**3.9 样品测定** 取 11 批猴耳环消炎颗粒,各样品分别作 3 个平行处理,按 3.2 项下方法制备供试品溶液,按 3.3 项下色谱条件测定,计算各样品中没食子酸和槲皮素的含量,结果见表 3。

表 3 猴耳环消炎颗粒中没食子酸和槲皮素含量(n=3) mg/袋

Table 3 Content of gallic acid and quercetin in Houerhuan anti-inflammation particles (n=3) mg/bag

厂家	批号	没食子酸	槲皮素
江西杏林白马药业	20130101	69.90	2.82
江西杏林白马药业	20121203	61.38	2.28
江西杏林白马药业	20130206	70.32	2.64
江西杏林白马药业	20130305	69.48	1.50
江西杏林白马药业	20130401	69.84	1.38
江西杏林白马药业	20130405	69.78	1.74
江西杏林白马药业	20130315	68.64	2.88
江西杏林白马药业	20130318	67.38	2.88
广州莱泰制药	130201	75.10	2.70
广州莱泰制药	130304	58.35	1.30
广州莱泰制药	130802	80.40	1.25

#### 4 讨论

文献报道,没食子酸与槲皮素在 254,360 nm 处均有较强吸收<sup>[8-9]</sup>,但本品在 360 nm 处槲皮素峰面积较小,其色谱峰无法与其他杂质峰完全分离。经过比较,最后选择检测波长为 254 nm。

由于没食子酸与槲皮素极性差别较大,需进行梯度洗脱。在实验过程中曾采用甲醇-水与乙腈-水为流动相,在流动相中加入磷酸,可明显改善没食子酸和槲皮素色谱峰的峰形。最后确定,以乙腈-0.2% 磷

酸为流动相进行梯度洗脱。

槲皮素作为有效成分,溶于热水或乙醇,常规水提工艺易造成转移率低,提示猴耳环消炎颗粒的工艺还有待优化,以提高成品中槲皮素的含量。

#### [参考文献]

- [1] 广东省食品药品监督管理局. 广东省中药材标准. 第一册 [S]. 广州: 广东科学技术出版社, 2004: 197-199.
- [2] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986: 613-615.
- [3] 苏妙贤, 唐之岳, 黄伟欢, 等. 猴耳环化学成分研究 [J]. 中药材, 2009, 32(5): 705-707.
- [4] 李镜友, 罗巧红, 张曼, 等. HPLC 法测定不同采收期猴耳环中没食子酸的含量 [J]. 中药材, 2009, 32(6): 915-916.
- [5] 李药兰, 李克明, 苏妙贤, 等. 猴耳环抗病毒有效成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(5): 397-399.
- [6] 郭晓宇, 王乃利, 宝丽, 等. 猴耳环的化学成分及其对 T 淋巴细胞增殖的影响 [J]. 中国药学: 英文版, 2007, 16(3): 208-212.
- [7] 刘永刚, 王晓东, 张小兵. 猴耳环质量标准研究 [J]. 中国药师, 2008, 11(1): 29-31.
- [8] 李艳芳, 夏泉, 许风清, 等. HPLC 法同时测定热淋清制剂中没食子酸和槲皮素的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14(12): 15-17.
- [9] 梁泰刚, 刘伟, 赵承孝, 等. HPLC 法同时测定养心草中没食子酸、槲皮素和山萘酚的含量 [J]. 光谱实验室, 2009, 26(4): 881-884.

[责任编辑 顾雪竹]