

# 丹清颗粒的质量标准研究

张蜀\*, 邓红, 林华庆, 余楚钦

(广东药学院药物研究所, 广东省药物新剂型重点实验室, 广东 广州 510006)

**[摘要]** 目的: 建立丹清颗粒的质量控制方法。方法: 采用薄层色谱法对方剂中的知母、甘草进行鉴别, 采用高效液相色谱法测定葛根素的含量。结果: 在选定的薄层色谱条件下, 可检出知母、甘草的特征斑点; 在选定的高效液相色谱条件下葛根素同其它成分达到较好的基线分离, 平均回收率为 98.22%, RSD 为 0.57%。结论: 所建立的方法具有简便、专属、重现性好的特点, 能有效地控制该制剂的质量。

**[关键词]** 丹清颗粒; 质量标准; 薄层色谱; 高效液相色谱; 葛根素

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2009)04-0015-03

丹清颗粒为 6 类中药新药, 由青蒿、知母、葛根、甘草等中药组成, 用于感冒后期低热不退或夜热早凉, 术后发热等症。为了控制该制剂的质量, 本文对其质量标准进行了实验研究, 建立了知母、甘草的薄层鉴别方法和葛根素含量的高效液相测定方法, 为该药的质量控制提供有效的方法。

## 1 仪器与试剂

Dionex 高效液相色谱仪, P680 HPLC Pump, UVD170U 检测器, Chromeleon-HPLC management software(美国戴安公司); 色谱柱: Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm, 迪马公司); KQ-300VDE 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); 薄层层析硅胶 G、GF<sub>254</sub>(青岛海洋化工有限公司); 菝葜皂苷元、甘草次酸、葛根素对照品、知母、甘草对照药材(中国药品生物制品检定所); 丹清颗粒(自制, 4 g/袋, 批号: 080401、080402、080403); 甲醇为色谱纯; 水为重蒸水; 其他试剂均为分析纯。

## 2 薄层色谱鉴别

**2.1 知母的鉴别** 取本品 10 g 研细, 加稀盐酸 50 mL, 三氯甲烷 50 mL, 超声处理 20 min, 移至分液漏斗中, 分取上层溶液回流 1 h, 放冷, 加三氯甲烷 50 mL, 超声处理 5 min, 移至分液漏斗中, 分取下层溶液, 蒸

干, 残渣加乙醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取知母对照药材 0.5 g, 照供试品制备方法制成知母对照药材溶液。再取菝葜皂苷元对照品, 加乙醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液, 得菝葜皂苷元对照品溶液。

照薄层色谱法<sup>[1]</sup> 试验, 吸取上述 3 种溶液各 5 μL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-丙酮(9:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 磷钼酸乙醇液, 在 105 °C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。

**2.2 甘草的鉴别** 取甘草对照药材 0.5 g, 照 2.1 项下的供试品制备方法制成甘草对照药材溶液。另取甘草次酸对照品, 加乙醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液, 得甘草次酸对照品溶液。照薄层色谱法<sup>[1]</sup> 试验, 吸取 2.1 项下的供试品溶液与上述 2 种溶液各 5 μL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚(30~60 °C)-甲苯-乙酸乙酯-冰醋酸(5:10:4:0.6)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 再放回同一展开液中, 二次展开, 取出, 晾干, 在 UV 灯下观察, 然后喷以 10% 磷钼酸乙醇液, 于 105 °C 烘箱加热 5 分钟至斑点显色清晰, 置日光下检视。供试品色谱图中, 在与对照药材色谱相应位置上, 呈相同颜色的蓝黑色斑点。

## 3 葛根素的含量测定

**3.1 色谱条件** Kromasil C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-0.1% 磷酸溶液(24:76); 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 检测波长 250 nm; 柱温 30 °C; 进样量 10 μL。理论板数以葛根素峰计算不低于 2 000。

**[收稿日期]** 2008-10-27

**[基金项目]** 广东省科技计划项目(2005A30101012), 广东省中医药局科技项目(1050046)

**[通讯作者]** \* 张蜀, Tel: (020) 39352507, Email: linzhangshu@tom.com

### 3.2 溶液的制备

**3.2.1 供试品溶液的制备** 取本品细粉约 1 g, 精密称定, 置 100 mL 锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL, 称定重量, 超声(功率 300 W, 频率 40 kHz) 处理 40 min, 放冷, 称重, 补足减失的重量, 滤过, 取续滤液, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

**3.2.2 对照品溶液的制备** 精密称取经五氧化二磷干燥 48 h 的葛根素对照品约 10 mg 置 25 mL 量瓶, 加 30% 乙醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得葛根素对照品贮备液; 精密吸取 2 mL 置 10 mL 量瓶, 加 30% 乙醇制得每 1 mL 含 80 μg 的葛根素对照品溶

液。

**3.2.3 阴性对照溶液的制备** 取丹清颗粒方中除葛根的其余群药材, 按颗粒制备方法及 3.2.1 项下方法制备葛根阴性对照溶液。

**3.3 样品测定** 分别吸取上述对照品溶液、供试品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 测定。计算丹清颗粒中葛根素的含量。

**3.4 专属性试验** 分别吸取葛根阴性对照溶液、对照品溶液与供试品溶液进样 10 μL, 记录色谱图(见图 1)。可见阴性对照对测定无干扰。

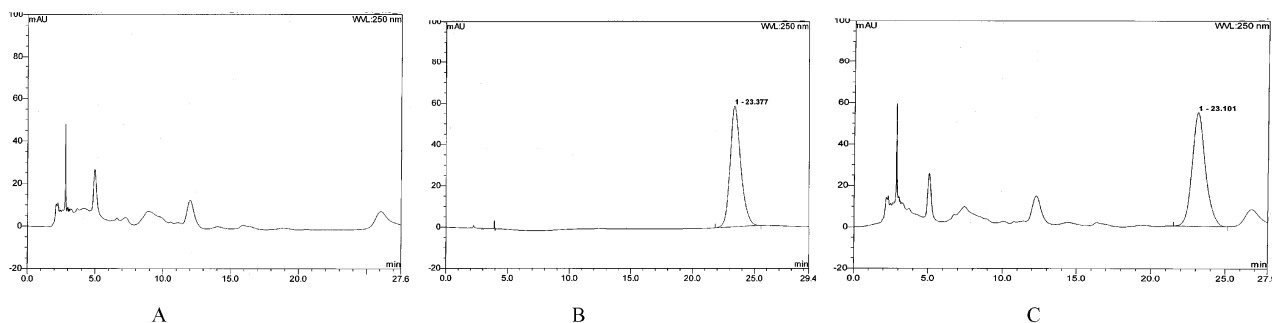


图 1 缺葛根的阴性对照(A)、葛根素对照品(B)与丹清颗粒(C)的 HPLC 图

**3.5 线性范围考察** 精密量取葛根素对照品贮备液适量于 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶液稀释至刻度, 配制成浓度分别为 42.63、84.105、126.147 μg·mL<sup>-1</sup> 系列对照品溶液, 分别进样 10 μL, 测定其峰面积, 以对照品浓度 C(μg·mL<sup>-1</sup>) 为横坐标, 峰面积 A 为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程为:  $A = 4\,008\,124C + 116\,247.8$ ,  $r = 0.999\,6$ 。结果表明葛根素在 0.42~1.47 μg 的范围内浓度与峰面积有良好的线性关系。

**3.6 精密度试验** 精密吸取供试品溶液 10 μL, 重复进样 6 次, 记录葛根素峰面积, 计算 RSD 为 0.96%。结果表明本法精密度好。

**3.7 重复性试验** 取同一供试品(批号 080401), 按 3.2.1 项下方法制备 6 份供试品溶液, 并测定含量, 结果葛根素平均含量为 3.871 6 mg·g<sup>-1</sup>, RSD 为 1.85%。表明本法重复性好。

**3.8 稳定性试验** 取上述重复性试验一份样品, 分别于 0, 2, 4, 6, 8 h 依法测定, 结果表明, 供试品溶液在 8 h 内稳定性良好, RSD 为 0.57%。

**3.9 加样回收率试验** 精密称取已知含量样品约 0.4 g、0.5 g、0.6 g 各 3 份(含量为 3.871 6 mg·g<sup>-1</sup>), 分别精密加入浓度分别为 0.155 2、0.194 0、0.232 8 mg·mL<sup>-1</sup> 的葛根素对照品溶液各 10 mL, 然后精密加入甲醇 40 mL, 依法测定, 计算回收率, 结果

见表 1, 结果表明, 本法具有良好的回收率。

表 1 回收率试验测定结果(n=9)

编号	样品称样量(g)	葛根素含量(mg)	对照品加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	0.403 2	1.561	1.552	3.090	98.52		
2	0.405 0	1.568	1.552	3.093	98.26		
3	0.402 7	1.559	1.552	3.089	98.58		
4	0.501 9	1.943	1.940	3.850	98.30		
5	0.505 2	1.956	1.940	3.840	97.11	98.22	0.57
6	0.503 9	1.951	1.940	3.842	97.47		
7	0.579 3	2.243	2.328	4.534	98.41		
8	0.583 0	2.257	2.328	4.550	98.50		
9	0.584 0	2.261	2.328	4.562	98.84		

**3.10 样品测定** 取 3 批自制样品, 按供试品溶液制备方法制备, 依法测定, 计算样品中葛根素的含量, 样品含量分别为 15.98, 15.86, 15.91(mg/袋)。

## 4 讨论

参照药典方法<sup>[1]</sup>进行甘草的薄层鉴别, 方中其他成分对其干扰严重, 因此供试品前处理采用水解法, 分别检识水解后的甘草次酸以及菝葜皂苷元, 结果令人满意。

由于本方中葛根的量较大, 葛根素是有效成分

之一,因此选择葛根素作为定量指标。参考药典<sup>[1]</sup>及文献[2],葛根素测定多采用甲醇-水作为流动相,由于葛根素含有酚羟基,具有一定酸性,易电离,加入酸后,峰形对称,分离度好<sup>[3,4]</sup>。故在流动相中加入0.1%磷酸,将流动相比例调整至甲醇-0.1%磷酸溶液(24:76)。结果表明,主成分峰峰形对称,与其它峰分离效果较好。

含量测定供试品溶液的制备考察了提取方法和提取时间。选择用甲醇提取葛根素,对加热回流、超声处理两种方法进行了比较,结果所得葛根素含量分别为 $3.8448 \sim 3.8382 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$  (RSD= 0.66%),因超声提取较为方便,且重复性好,故采用超声方法提取;考察超声提取20,30,40,50 min,所得葛根素含量

分别为 $2.527, 3.082, 3.831, 3.833 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,故认为超声提取40 min葛根素已提取完全。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005: 附录31, 234.
- [2] 熊汝菊, 马新飞, 陆兔林, 等. 高效液相色谱法测定颈宁胶囊中葛根素的含量[J]. 中国中医药信息杂志, 2008, 15(2): 53-54.
- [3] 宿结, 杨晓云, 吴爱英. HPLC法测定天乐胶囊中的葛根素含量[J]. 中国临床药学杂志, 2003, 12(2): 94.
- [4] 林少华, 赫玉芳, 南敏伦, 等. 高效液相色谱法测定降脂减肥颗粒中葛根素的含量[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(2): 205.