

# 银花芒果颗粒质量标准研究

蒋珍藕<sup>1</sup>, 刘智生<sup>1</sup>, 黄瑞松<sup>2</sup>, 韦善新<sup>1</sup>, 黄明桂<sup>1</sup>, 覃兰芳<sup>1</sup>

(1 广西天然药物研究中心, 广西南宁 530022; 2 广西民族医药研究所, 广西南宁 530001)

**摘要:**目的: 建立银花芒果颗粒的质量标准。方法: 采用薄层色谱法鉴别银花芒果颗粒中的金银花、芒果叶、陈皮、甘草; 并采用高效液相色谱法测定该药中橙皮苷的含量。结果: 在薄层色谱中可检出金银花、芒果叶、陈皮、甘草; 橙皮苷在 0.404~2.020  $\mu\text{g}$  范围内与峰面积呈良好的线性关系,  $r = 0.9992$ , 平均回收率为 101.82%, RSD 为 1.47%。结论: 所建立的方法简便可行, 重复性好, 可用于该药的质量控制。

**关键词:** 银花芒果颗粒; 橙皮苷; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 质量标准

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2004)06-0019-03

## Study on Quality Standard for Yinhuamangguo Keli

JIANG Zhen-ou<sup>1</sup>, LIU Zhi-sheng<sup>1</sup>, HUANG Rui-song<sup>2</sup>, WEI Shan-xin<sup>1</sup>, HUANG Min-gui<sup>1</sup>, QIN Lanfang<sup>1</sup>

(1 Guangxi Research Centre of Natural Materia Medica, Nanning 530022, China;

2 Guangxi Institute of Minority Nationality Medicine and Pharmacology, Nanning 530001, China)

**Abstract** Objective: To establish the quality control standard of Yinhuamangguo Keli. Methods: Flos Lonicerae, Folium Mangiferae, Pericarpium Citri Reticulatae and Radix Glycyrrhizae in Yinhuamangguo Keli were identified by TLC. The content of hesperidin in Yinhuamangguo Keli was determined by HPLC. Results: Flos Lonicerae, Folium Mangiferae, Pericarpium Citri Reticulatae and Radix Glycyrrhizae could be detected by TLC. Hesperidin showed a good linear relationship at a range of 0.404~2.020  $\mu\text{g}$ ,  $r = 0.9992$ . The average recovery was 101.82% and RSD was 1.47%. Conclusion: The established methods are simple, feasible and reproducible. This study provided a methods for the quality control of Yinhuamangguo Keli.

**Key words:** Yinhuamangguo Keli; hesperidin; TLC; HPLC; quality standard

银花芒果颗粒由金银花、芒果叶、陈皮、甘草等中草药制成, 具有清热解毒、止咳化痰的功效, 用于上呼吸道感染、急性支气管炎所致的咽痛、喉痒、咳嗽。该药原收载于广西药品标准(1993年版), 但原质量标准中没有鉴别和含量测定项目, 使该药的质量无法进行控制。为有效控制该药品质量, 本文采用薄层色谱法对该药的金银花、芒果叶、陈皮、甘草进行定性鉴别, 并采用高效液相色谱法测定了橙皮苷的含量。结果表明方法简便、重现性好, 可作为该药质量控制依据。

## 1 仪器与试剂

LC-6A 液相色谱仪 SPD-6A 紫外-可见光分光光度检测器(日本岛津), Beliasil C<sub>18</sub> 柱(250 × 4.6mm), 威玛龙色谱数据处理软件系统; 液相流动相所用甲醇为色谱纯, 水为重蒸水, 其余所用试剂均

为分析纯; 化学对照品橙皮苷、甘草酸铵、绿原酸及对照药材金银花、陈皮、甘草均由中国药品生物制品检定所提供, 银花芒果颗粒、各被检药材的阴性制剂和芒果叶对照药材均由广西中医学院附属制药厂提供, 对照药材芒果叶经该厂总工程师李国权鉴定。

## 2 方法与结果

### 2.1 薄层鉴别

**2.1.1 金银花的鉴别** 取样品 15g, 研细, 加甲醇 50mL, 超声处理 30min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 25mL 使溶解, 用醋酸乙酯振摇提取 3 次, 每次 15mL, 水层备用。合并醋酸乙酯液, 蒸干, 残渣加甲醇 1mL 使溶解, 作为供试品溶液; 另取缺金银花的阴性制剂 15g, 同法制成阴性对照溶液; 再取金银花对照药材 1g, 加甲醇 10mL, 超声处理 30min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 1mL 使溶解, 作为对照药材溶液; 取绿原酸对照品, 加甲醇制成每 1mL 含 1mg 溶液, 作为对照品溶液。吸取上述四种溶液各 5 $\mu\text{L}$ , 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, 以醋酸丁酯-甲酸-水(7: 2.5: 2.5) 的上层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 露置空气中 48h 后, 日光下检视。供试品色谱中, 在与对照品及对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 而阴性无干扰。见图 1(a)。

**2.1.2 芒果叶的鉴别** 取 2.1.1 项下醋酸乙酯萃取后的水层, 用水饱和的正丁醇振摇提取 3 次, 每次 15mL, 合并正丁醇溶液, 蒸干, 残渣加甲醇 1mL 使溶解, 作为供试品溶液; 另取缺芒果叶的阴性制剂 15g, 同法制成阴性对照溶液; 再取芒果叶对照药材 1g, 加乙醇 20mL 回流提取 1h, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 1mL 使溶解, 作为芒果叶对照药材溶液。吸取上述三种溶液各 1 $\mu$ L, 分别点于同一聚酰胺薄膜片上, 以甲醇为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点, 而阴性无干扰。见图 1(b)。

**2.1.3 陈皮的鉴别** 取缺陈皮的阴性制剂 15g, 按 2.1.1 项下供试品溶液制备方法同法制成阴性对照溶液; 另取陈皮对照药材 0.5g, 加甲醇 10mL 超声处理 10min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 1mL 使溶解, 作为对照药材溶液; 再取橙皮苷对照品加甲醇制成饱和溶液, 作为对照品溶液。吸取 2.1.1 项下的供试品溶液及上述阴性对照溶液和对照药材溶液各 1 $\mu$ L, 对照品溶液 3 $\mu$ L, 分别点于同一聚酰胺薄膜片上, 以氯仿-丙酮-甲醇(5: 1: 1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 1% 三氯化铝甲醇溶液, 晾干, 置紫外光灯(365nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照品及对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点, 而阴性无干扰。见图 1(c)。

**2.1.4 甘草的鉴别** 取样品 15g, 研细, 加甲醇 40mL, 超声处理 30min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 40mL 使溶解, 用乙醚振摇提取 3 次, 每次 20mL, 弃去乙醚液, 水层用正丁醇提取 3 次, 每次 20mL, 合并正丁醇液, 用水洗涤 3 次, 每次 15mL, 水溶液弃去, 正丁醇液蒸干, 残渣加甲醇 1mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取缺甘草的阴性制剂 15g, 同法制成阴性对照溶液; 再取甘草对照药材粉末 1g, 加甲醇 10mL 超声处理 10min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 1mL 使溶解, 作为对照药材溶液; 取甘草酸铵对照品, 加甲醇制成每 1mL 含 2mg 的溶液, 作为对照品溶液。吸取上述 4 种溶液各 5 $\mu$ L, 分别点于同一以含 0.5% 氢氧

化钠的羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 GF<sub>254</sub> 薄层板上, 以正丁醇-醋酸乙酯-冰醋酸-水(7: 2: 1: 2.5) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干。置紫外光灯(254nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照品及对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 而阴性无干扰。见图 1(d)。

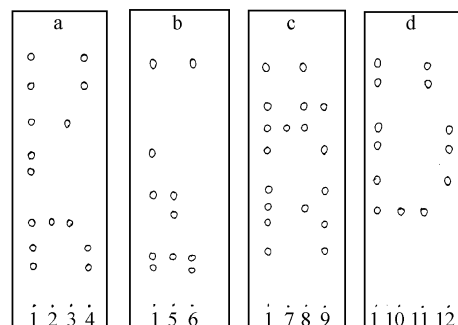


图 1 金银花(a)、芒果叶(b)、陈皮(c)、甘草(d)的薄层色谱图

1. 供试品, 2. 绿原酸对照品, 3. 金银花对照药材, 4. 阴性对照(缺金银花), 5. 芒果叶对照药材, 6. 阴性对照(缺芒果叶), 7. 橙皮苷对照品, 8. 陈皮对照药材, 9. 阴性对照(缺陈皮), 10. 甘草酸铵, 11. 甘草对照药材, 12. 阴性对照(缺甘草)

## 2.2 含量测定

**2.2.1 色谱条件与系统适用性试验** 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 流动相: 甲醇-醋酸-水(35: 4: 61); 流速: 1mL/min; 灵敏度: 0.05AUFS; 柱温: 室温; 检测波长为 283nm; 理论塔板数按橙皮苷峰计算应不低于 2000, 在上述色谱条件下, 橙皮苷和样品中其它组分色谱峰可基线分离, 橙皮苷与其相邻色谱峰的分离度大于 1.5。

**2.2.2 对照品溶液的制备** 取橙皮苷对照品 10mg, 精密称定, 置 25mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 精密吸取 1mL 置 5mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 取本品 1g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25mL, 称定重量, 超声处理 30min, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 静置, 滤过, 取续滤液, 即得。

**2.2.4 阴性对照溶液的制备** 取缺陈皮的阴性制剂按供试品溶液的制备方法同法制成阴性对照溶液。

**2.2.5 干扰试验** 精密吸取上述对照品溶液和供试品溶液(20020612) 及阴性对照品溶液各 10 $\mu$ L, 照上述色谱条件试验, 记录色谱图。结果供试品色谱图中有与橙皮苷保留时间相同的吸收峰, 阴性对照未检出橙皮苷峰, 表明用本方法测定橙皮苷含量无阴性干扰, 专属性强。见图 2。

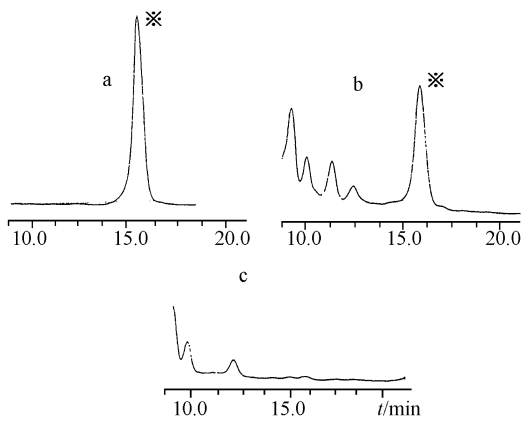


图 2 橙皮苷(a)、供试品(b)和阴性对照(缺陈皮)(c)的高效液相色谱图  
※橙皮苷

**2.2.6 线性关系考察** 精密吸取对照品溶液 1.0mL、2.0mL、3.0mL、4.0mL、5.0mL, 分别置 5mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 精密吸取上述五种对照品溶液各 5 $\mu$ L, 注入液相色谱仪, 测定, 记录峰面积。以进样量(Y,  $\mu$ g)为纵坐标, 对照品峰面积(X)为横坐标, 绘制标准曲线。结果表明, 在 0.404 $\mu$ g~2.020 $\mu$ g 范围内, 进样量与峰面积呈良好的线性关系。其回归方程为  $Y=1.02 \times 10^{-6}X + 2.66 \times 10^{-2}$ ,  $r=0.9992$ 。

**2.2.7 精密度试验** 取同一样品溶液重复进样 5 次。结果橙皮苷峰面积的 RSD 为 0.62%, 表明精密度良好。

**2.2.8 重复性试验** 取同一样品(20020612), 按样品测定项下的方法, 平行测定 5 份。结果橙皮苷峰面积的 RSD 为 0.69%。

**2.2.9 稳定性试验** 取同一样品溶液, 分别于 0.2、4.6、8h 进行测定。结果橙皮苷峰面积的 RSD 为 0.59%, 表明供试品溶液中橙皮苷含量在 8h 内基本稳定。

**2.2.10 回收率试验** 采用加样回收法, 取已知含量的同一样品(20020612) 6 份, 精密称定, 再精密加入橙皮苷对照品溶液一定量, 按样品测定项下的方法测定。计算含量及回收率。结果, 平均回收率为 101.82%, RSD 为 1.47%。见表 1。

表 1 回收率试验结果(n=6)

编号	取样中橙皮苷量(mg)	加入橙皮苷量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{x}$ (%)	RSD(%)
1	1.666	1.660	3.374	102.89		
2	1.672	1.660	3.368	102.17		
3	1.676	1.660	3.361	101.51	101.82	1.47
4	1.676	1.660	3.388	103.13		
5	1.676	1.660	3.372	102.17		
6	1.677	1.660	3.321	99.04		

**2.2.11 样品测定** 取 3 批样品, 按 2.2.3 项下方法制备成供试品溶液, 精密吸取样品溶液及 2.2.2 项下对照品溶液各 10 $\mu$ L, 按上述色谱条件测定, 计算样品中橙皮苷含量。结果见表 2。

表 2 3 批样品测定结果(n=2)

批号	橙皮苷含量(mg/g)	相对偏差(%)
20020610	1.44	1.39
20020611	1.29	0.78
20020612	1.61	0.62

### 3 讨论

**3.1** 本方组成中各药味含黄酮类成分较多, 因此在做芒果叶和陈皮薄层鉴别时, 常常受到干扰。曾选用硅胶 G、硅胶 H、碱性硅胶 G 等不同的吸附剂及不同的展开剂, 均没能达到理想的分离效果, 后改用聚酰胺薄膜片, 优选合适的展开剂后, 则得到了理想的层析效果。

**3.2** 橙皮苷的含量测定方法, 文献记载方法有: 库伦滴定法<sup>[1]</sup>、薄层扫描法<sup>[4]</sup>、分光光度法<sup>[1]</sup>、荧光法<sup>[1]</sup>、荧光薄层扫描法<sup>[5]</sup>及高效液相色谱法<sup>[2~6]</sup>等。本文采用分离效果好, 专属性强, 灵敏, 准确的高效液相色谱法。

**3.3** 含量测定中样品前处理方法经实验研究, 比较了不同的提取溶剂(甲醇、乙醇、醋酸乙酯), 不同的提取方法(索氏提取、超声提取、冷浸), 不同的提取时间(20、30、40min), 结果选定以甲醇作为溶剂, 超声提取 30min, 既保证被测成分提取完全, 又省时简便。

**3.4** 银花芒果颗粒为中药复方制剂, 成分复杂, 本文采用 TLC 鉴别对其中的主要中药进行定性控制; 采用 HPLC 法对橙皮苷进行定量检测, 结果准确简便, 重现性好, 可有效控制该制剂质量。

### 参考文献:

- [1] 苗明三, 李振国, 冀春茹, 等. 现代实用中药质量控制技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000. 585.
- [2] 归筱铭, 陈晓亮, 王政峰. 陈皮饮片中橙皮苷的高效薄层扫描定量[J]. 中成药, 1988, 10(10): 19.
- [3] 常珉, 蒋敏, 李安娟. 枳实及三种中成药中橙皮苷的荧光薄层扫描定量法[J]. 药物分析杂志, 1990, 10(2): 94.
- [4] 王静竹, 陈定一, 王晶. 高效液相色谱法测定陈皮中橙皮苷的含量[J]. 中国中药杂志, 1994, 19(71): 424.
- [5] 唐志杰, 刘丛盛, 林小燕, 等. 高效液相色谱法测定陈皮中橙皮苷的含量[J]. 中成药, 1994, 16(3): 43.
- [6] 童菜生, 吴齐贤. 高效液相色谱法测定理气护胃口服液中的橙皮苷的含量[J]. 中国中药杂志, 1999, 24(12): 737.