

中图分类号: R917; R927 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)22-0089-03
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.22.020



金莲花软胶囊质量标准提升研究*

林凤屏, 翁嘉, 陈霞飞, 李锦妹, 欧阳珠

(惠州市食品药品检验所, 广东 惠州 516003)

摘要:目的 提升金莲花软胶囊的质量标准。方法 采用薄层色谱(TLC)法对制剂中的金莲花进行定性鉴别;采用高效液相色谱(HPLC)法对制剂成分苾草苷进行含量测定,色谱柱为Ultimate XB-C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为甲醇-乙腈-0.1%磷酸水溶液(10:12:78, V/V/V),流速为1.0 mL/min,检测波长为349 nm,柱温为35℃,进样量为10 μL。结果 金莲花的TLC图斑点清晰,分离良好,阴性对照无干扰。苾草苷质量浓度在1.68~168.97 μg/mL范围内与峰面积线性关系良好($r=0.9999$);精密度、稳定性、重复性试验结果的RSD均小于1.0%;平均加样回收率为97.87%,RSD为1.70%($n=6$)。结论 所建立的方法专属性强、重复性好,结果准确,可用于金莲花软胶囊的质量控制。

关键词:金莲花软胶囊;质量标准;薄层色谱法;高效液相色谱法;苾草苷

Improvement of Quality Standard for Jinlianhua Soft Capsules

LIN Fengping, WENG Jia, CHEN Xiafei, LI Jinmei, OUYANG Zhu

(Huizhou Institute for Food and Drug Control, Huizhou, Guangdong, China 516003)

Abstract: Objective To improve the quality standard of Jinlianhua Soft Capsules. **Methods** Flos Trollii in the preparation was identified qualitatively by the thin-layer chromatography (TLC) method. The content of orientin in the preparation was determined by the high-performance liquid chromatography (HPLC) method; the chromatographic column was Ultimate XB-C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was methanol-acetonitrile-0.1% phosphoric acid aqueous solution (10:12:78, V/V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 349 nm, the column temperature was 35℃, and the injection volume was 10 μL. **Results** The TLC chromatograms of Flos Trollii showed clear spots, good resolution and no interference from the negative reference. The linear range of orientin was 1.68-168.97 μg/mL ($r=0.9999$). The RSDs of precision, stability and repeatability tests were all lower than 1.0%. The average recovery rate of orientin was 97.87%, with an RSD of 1.70% ($n=6$). **Conclusion** The established method is accurate, specific and repeatable, which can be used for the quality control of Jinlianhua Soft Capsules.

Key words: Jinlianhua Soft Capsules; quality standard; TLC; HPLC; orientin

金莲花软胶囊由金莲花单味药材经煎煮、干燥、粉碎、制粒而成,有抗菌消炎作用,主要用于治疗上呼吸道感染、牙周炎、腮腺炎、口腔溃疡、手足口病,为儿科常用药,具有副作用小、疗效确切的优点。有研究表明,金莲花软胶囊可抑制人冠状病毒OC43复制及病毒感染引起的宿主细胞相关因子的高表达^[1-3]。该制剂现行标准为原国家食品药品监督管理局标准(标准号YBZ02792008, YBZ30232005-2010Z)。前一标准中收录了金莲花药材的理化鉴别、薄层色谱(TLC)鉴别及芦丁含量的测定方法(紫外-可见分光光度法),后一标准中收录了金莲花药材的TLC鉴别及槲皮素含量测定的高效液相色谱(HPLC)法,但此2种标准内容与2020年版《中国药典(一部)》金莲花制剂(包括口服液、片、胶囊、颗粒、润喉片)相比专属性不强。鉴于此,本研究中参考2020年版《中国药典》及相关文献^[4-11]对金莲花软胶囊质量标准的提升进行探讨。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Shimadzu LC-20A型及Agilent 1260型高效液相色谱仪(日本Shimadzu公司及美国Agilent公司,均配置二极管阵列检测器);XS205型及XS204型电子天平(瑞士Mettler Toledo公司,精度分别为0.01 mg, 0.1 mg);Camag Peprostar 3型薄层成像系统(瑞士Camag公司);KQ-250型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 试剂

金莲花软胶囊样品10批(A厂,批号分别为L17K061, L17C061, L17L161, L18C051, L18B281, L18A111, L17A131; B厂,批号分别为170408, 170904, 180108);苾草苷对照品(批号为111777-201302,含量≥98%),牡荆苷对照品(批号为111687-200602,含量≥98%),金莲花对照药材(批号为121089-201204),均购于中

*基金项目:广东省惠州市科技计划项目[2022CZ010449]。

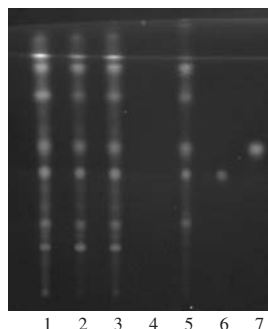
第一作者:林凤屏,女,大学本科,主管药师,研究方向为药品质量控制,(电子信箱)624595713@qq.com。

国食品药品检定研究院;硅胶G薄层板(青岛海洋化工厂);甲醇、乙腈均为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯净水。

2 方法与结果

2.1 TLC 鉴别

取样品内容物 1.5 g,混匀,加 80% 乙醇 25 mL,超声(功率 250 W、频率 40 kHz,下同)处理 15 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 10 mL 使溶解,用乙酸乙酯振摇提取 3 次,每次 20 mL,合并提取液,蒸干,残渣加甲醇 5 mL 使溶解,即得供试品溶液。取荜草苷、牡荆苷对照品各适量,分别加甲醇制成每 1 mL 含荜草苷 0.6 mg、牡荆苷 0.3 mg 的单一对照品溶液。取金莲花对照药材 0.5 g,加 80% 乙醇 15 mL,按供试品溶液制备方法制备对照药材溶液。按金莲花软胶囊处方及工艺制备缺金莲花药材的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。吸取上述溶液各 1 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-丁酮-甲酸-水(12:6:1:1.5, V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 三氯化铝乙醇溶液,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液和单一对照品溶液色谱相应位置显相同的荧光斑点,且阴性对照无干扰。详见图 1。



1-3. 供试品溶液 4. 阴性对照品溶液 5. 对照药材溶液
6. 荜草苷对照品溶液 7. 牡荆苷对照品溶液

图 1 薄层色谱图

1-3. Test solution 4. Negative reference solution 5. Reference medicinal solution 6. Orientin reference solution 7. Vitexin reference solution

Fig. 1 TLC chromatograms

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件

色谱柱:Ultimate XB-C₁₈柱(250 mm×4.6 mm,5 μ m);流动相:甲醇-乙腈-0.1%磷酸水溶液(10:12:78, V/V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:349 nm;柱温:35 $^{\circ}$ C;进样量:10 μ L。

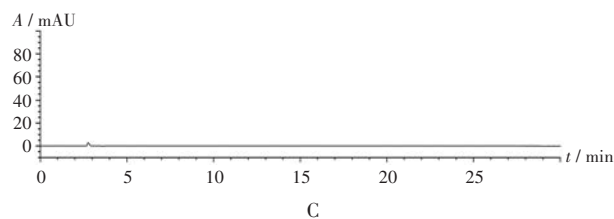
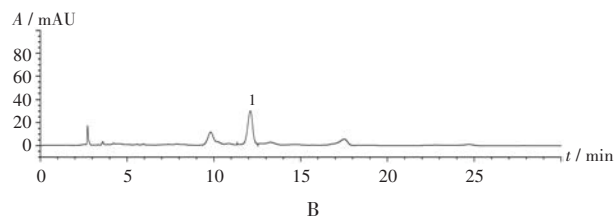
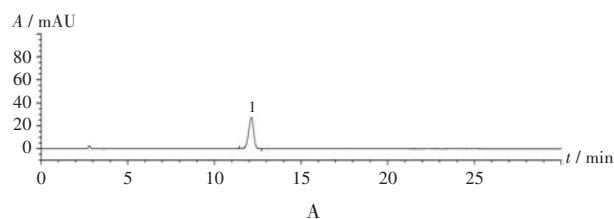
2.2.2 溶液制备

取荜草苷对照品 10 mg,精密称定,置 50 mL 容量瓶中,加甲醇溶解并定容,摇匀;精密吸取 2 mL,置 20 mL 容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,即得对照品溶液。将 10 粒

样品内容物混匀,取约 0.25 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,密塞,称定质量,超声处理 20 min,放冷至室温,再次称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

2.2.3 方法学考察

专属性试验:分别吸取 2.2.2 项下对照品溶液、供试品溶液及 2.1 项下阴性对照品溶液各 10 μ L,按 2.2.1 项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果阴性对照品溶液在与对照品溶液相同保留时间处无干扰峰,表明专属性良好。详见图 2。



1. 荜草苷

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图 2 高效液相色谱图

1. Orientin

A. Reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 2 HPLC chromatograms

线性关系考察:取荜草苷对照品适量,精密称定,加甲醇溶解并稀释,制得不同质量浓度的系列对照品溶液;各取 10 μ L,按 2.2.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积,以荜草苷质量浓度(X, μ g/mL)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 25.699X + 8.2762$ ($R^2 = 0.9999$)。结果表明,荜草苷质量浓度在 1.68 ~ 168.97 μ g/mL 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:精密吸取 2.2.2 项下对照品溶液 10 μ L,按 2.2.1 项下色谱条件连续进样测定 6 次,记录峰面积。结果的 RSD 为 0.40% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取供试品(批号为 L17K061)溶液适量,分别于室温下放置 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 时按 2.2.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果的 RSD 为 0.70%

($n = 7$), 表明供试品溶液室温下放置 24 h 内基本稳定。

重复性试验: 取样品(批号为 L17K061)适量, 精密称定, 共 6 份, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.2.1 项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 并计算含量。结果荭草苷的平均含量为 4.21 mg/g, RSD 为 0.60% ($n = 6$), 表明方法重复性良好。

加样回收试验: 取已知含量(4.211 mg/g)的样品(批号为 L17K061)6 份, 每份约 0.125 g, 精密称定, 分别加入荭草苷对照品溶液(质量浓度为 0.16545 mg/mL) 3 mL, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液(从“精密加入甲醇 50 mL”起), 按 2.2.1 项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 并计算加样回收率。结果见表 1。

表 1 加样回收试验结果 ($n = 6$)

Tab. 1 Results of the recovery test ($n = 6$)

取样量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	\bar{X} (%)	RSD(%)
0.1277	0.5377	0.4964	1.0086	94.86	97.87	1.70
0.1280	0.5390	0.4964	1.0300	98.91		
0.1257	0.5293	0.4964	1.0223	99.32		
0.1283	0.5403	0.4964	1.0231	97.26		
0.1230	0.5180	0.4964	1.0094	98.99		
0.1229	0.5175	0.4964	1.0034	97.88		

2.2.4 样品含量测定

取 10 批样品各适量, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 按 2.2.1 项下色谱条件进样测定, 按外标法计算样品含量。结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果 (mg/g, $n = 3$)

Tab. 2 Results of content determination of orientin in samples (mg/g, $n = 3$)

批号	含量	批号	含量
L17K061	4.211	L18A111	5.254
L17C061	4.081	L17A131	3.926
L17L161	5.196	170408	3.994
L18C051	5.069	170904	3.786
L18B281	4.920	180108	3.561

3 讨论

3.1 薄层色谱

预试验中考察了不同展开剂, 包括乙酸丁酯-甲酸-水(7:2.5:2.5, V/V/V)、甲苯-乙酸乙酯-甲酸-水(1:8:1:1, V/V/V/V)的上层溶液、三氯甲烷-甲醇-冰醋酸(7:3:4, V/V/V)、乙酸乙酯-丁酮-甲酸-水(8:6:1:1.5 及 12:6:1:1.5, V/V/V/V), 根据试验结果及考虑减少有毒有害试剂的使用, 确定展开系统为乙酸乙酯-丁酮-甲酸-水(12:6:1:1.5, V/V/V/V)。同时对不同厂家(德国 Merck 公司, 青岛海洋化工厂, 烟台市化学工业研究所)的薄层板、不同试验温度(4℃和 40℃)和相对湿度(32%和 88%)进行考察, 结果表明,

不同板材及温度、湿度变化对色谱效果无影响, 表明本方法耐用性良好。

3.2 含量测定

金莲花软胶囊抗菌主要有效成分为黄酮类化合物, 包括荭草苷、牡荆苷、荭草素-2"-O-β-L-半乳糖苷、金莲花苷等成分^[12-14]。现行标准中缺少对金莲花药材有效成分的定量研究, 无法更好地满足该制剂的质量控制要求。本研究中采用 HPLC 法测定金莲花软胶囊中荭草苷的含量, 方法简便, 专属性强, 重复性好。另外, 预试验中还对不同流速(0.9 mL/min 和 1.1 mL/min)、不同柱温(30℃和 40℃)及不同色谱柱进行了考察, 结果三者小幅变动对测定结果无影响, 表明所建立的测定方法耐用性良好, 可用于金莲花软胶囊的含量测定。

参考文献

- [1] 毛鑫, 古淑尹, 刘叔文, 等. 金莲花软胶囊对冠状病毒 OC43 的抑制作用[J]. 今日药学, 2021, 31(12): 914-917.
- [2] 吴卓耘, 周晓俊, 王东华, 等. 金莲花软胶囊治疗急性上呼吸道感染外感风热证的疗效观察[J]. 现代药物与临床, 2018, 33(3): 532-536.
- [3] 孙萍, 李新朋, 薛涛, 等. 金莲花药理作用及临床应用研究进展[J]. 中国药房, 2022, 33(4): 507-512.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 1160-1163.
- [5] 杨天寿, 肖新月, 安瑜, 等. 金莲花的薄层鉴别与含量测定研究[J]. 药物分析杂志, 2014, 34(10): 1878-1882.
- [6] 杨天寿, 李居安, 魏锋, 等. 金莲花的薄层鉴别及其总黄酮含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(24): 91-93.
- [7] 张建培, 乔桦, 张培伦, 等. RP-HPLC 法同时测定金莲花中 5 种黄酮苷类成分的含量[J]. 沈阳药科大学学报, 2018, 35(1): 47-52.
- [8] 任桂玲, 郭艳玲, 董晓强, 等. 金莲花口服液 HPLC 指纹图谱及有效成分含量测定[J]. 承德医学院学报, 2014, 31(6): 463-465.
- [9] 齐武强, 王明昭. 中药金莲花的质量标准及其总黄酮成分的提取工艺研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2017, 12(8): 1089-1091.
- [10] 汪海宣, 叶红兵, 许倩, 等. 金莲花中药饮片质量研究[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(8): 963-966.
- [11] 吴磊, 陆超. 中药金莲花质量标准的建立与优化[J]. 生物加工过程, 2022, 20(5): 552-557.
- [12] 赵丹阳. 金莲花化学成分及生物活性研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2019.
- [13] 雷蓉, 冯丽, 刘永利, 等. 金莲花的研究进展[J]. 中药材, 2015, 38(5): 1085-1091.
- [14] 蔡红业, 刘海松, 郑国华, 等. 金莲花化学成分和药理活性研究进展[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2021, 23(7): 2340-2352.

(收稿日期: 2023-03-06; 修回日期: 2023-06-10)