

抗感泡腾片生产过程中酚酸类成分的质量控制方法研究

张媛媛, 张加晏, 迟玉明*, 杨 光

中药复方新药开发国家工程研究中心, 北京 100075

摘要:目的 建立抗感泡腾片提取液中酚酸类成分的测定方法,为抗感泡腾片生产过程的在线质量控制提供参考。方法 以抗感泡腾片生产工艺为基础,在线收集样品。通过亚硝酸钠显色反应,采用分光光度法以绿原酸为对照品对样品进行分析。结果 绿原酸在 0.083~0.332 mg 呈线性关系,平均回收率为 101.91%, RSD 为 1.65%。结论 该方法有利于生产过程中的质量控制,且简便、准确、可靠,可作为抗感泡腾片的质量控制方法。

关键词: 抗感泡腾片; 酚酸类成分; 绿原酸; 分光光度法; 质量控制

中图分类号: R282.71 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2011)04-0307-03

Quality control of phenolic acids in preparation of Kanggan Effervescent Tablet

ZHANG Yuan-yuan, ZHANG Jia-yan, CHI Yu-ming, YANG Guang

State Engineering Research Center for R&D of TCM Multi-ingredient Drugs, Beijing 100075, China

Abstract: Objective To establish a method for the determination of phenolic acids in extract solution of Kanggan Effervescent Tablet, and provide reference for Kanggan Effervescent Tablet quality control of the production process. **Method** Based on the production process of Kanggan Effervescent Tablet, collection of samples was online carried out. The chlorogenic acid were determined with the chlorogenic acid as a control standard by spectrophotometry through the color reaction of sodium nitrite. **Results** Good linearity of chlorogenic acid was obtained within the range of 0.083—0.332 mg. The recovery was 101.91%, and RSD was 1.65%. **Conclusion** The method is simple, accurate, reliable, and conducive to the quality control in the production process, and it can be used as a method for Kanggan Effervescent Tablet quality.

Key words: Kanggan Effervescent Tablet; phenolic acids; chlorogenic acid; spectrophotometry; quality control

抗感泡腾片处方由金银花、赤芍、绵马贯众组成,以金银花为君药,其主要有效成分是酚酸类化合物^[1]。目前常以绿原酸作为抗感泡腾片质量检测的一个指标,采用高效液相色谱法测定。但绿原酸不稳定,且该法测定成分单一,不能全面反映抗感泡腾片的有效成分。因此本实验根据文献报道^[2-3],以醋酸、尿素、亚硝酸钠、氢氧化钠作为显色反应试剂,采用分光光度法测定抗感泡腾片提取液在大孔树脂乙醇洗脱液中酚酸类成分,希望为其在线质量控制研究提供依据。

1 仪器与试剂

UV757CRT 紫外-可见分光光度仪(上海精密科学仪器有限公司);Mettler Toledo AB135—S 型电子分析天平。

绿原酸对照品(中国药品生物制品检定所,批

号 110753-200413);冰醋酸、尿素、亚硝酸钠、氢氧化钠为分析纯;抗感泡腾片提取液由中药复方新药开发国家工程研究中心中试车间提供,批号 20080105。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备

精密称取绿原酸对照品适量,置量瓶中,加水溶解,并稀释至刻度,摇匀,即得含绿原酸 0.166 mg/mL 对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备

抗感泡腾片生产制备过程包括提取、大孔树脂水洗脱和乙醇洗脱等精制过程,其中在大孔树脂乙醇洗脱的过程中采集不同时间段的提取液,每隔 20 min 采集 1 次,采集了 18 份提取液,作为供试品溶液。

收稿日期: 2010-12-17

基金项目: 北京市科技计划项目(D0205004040331)

*通讯作者 迟玉明 Tel: (010)87632503 E-mail: chi_yuming@hotmail.com

2.3 测定波长的确定

分别精密吸取 1 mL 绿原酸对照品溶液和供试品溶液于 10 mL 量瓶中, 依次加入 12.5%醋酸溶液 0.1 mL、7%尿素溶液 2 mL、0.5%亚硝酸钠溶液 1 mL 混合均匀, 3 min 后加入 5%氢氧化钠溶液 1 mL, 加水至刻度, 摇匀。随行试剂为空白。按分光光度法, 在 200~800 nm 扫描得到吸收光谱。结果对照品溶液和供试品溶液在 510 nm 处均有最大吸收。

2.4 显色方法的确定

2.4.1 单因素试验 分别精密吸取 1 mL 供试品溶液于 10 mL 量瓶中, 第 1 组分别加入 0.1~0.5 mL 的醋酸溶液, 第 2 组分别加入 0~7 mL 的 7%尿素溶液, 第 3 组分别加入 0.1~1.9 mL 的 0.5%亚硝酸钠溶液, 第 4 组分别加入 0.2~1.4 mL 的 5%氢氧化钠溶液, 其余操作同“2.3”项下方法, 在 510 nm 下测定其吸光度。结果表明, 氢氧化钠的用量在 0.4~1.4 mL 时, 吸光度值最大且恒定。醋酸、尿素、亚硝酸钠的用量对吸光度的影响较大, 因此需要采用正交试验设计优化相关参数。

2.4.2 正交试验设计 单因素试验确定了各因素所在范围, 由于显色反应中酸碱有交互作用, 因此选择有交互作用的 $L_{27}(3^{13})$ 正交试验, 考察了醋酸用量 (因素 A)、尿素用量 (因素 B)、亚硝酸钠用量 (因素 C) 对显色反应的影响, 每个因素取 3 个水平, 因素水平见表 1, $L_{27}(3^{13})$ 正交试验设计见表 2。

表 1 因素与水平

Table 1 Factors and levels

水 平	因 素		
	A/mL	B/mL	C/mL
1	0.1	0.5	0.5
2	0.2	2	1
3	0.4	4	1.5

采用 SPSS13.0 软件将 1~27 号试验的吸光度进行方差分析, 见表 3。结果表明, 因素 A、B、C 及 A、B 的交互作用对显色反应的影响均无统计学意义, 但 B、C 具有交互作用, 对显色反应的影响有统计学意义, 因此以吸光度为考察指标, 兼顾节约, 最终选用的显色反应条件为 $A_1B_2C_2$ 。

表 2 正交试验设计

Table 2 Design of orthogonal test

试验号	A	B	(A×B) 1	(A×B) 2	C	(B×C) 1	(B×C) 2	吸光度
1	1	1	1	1	1	1	1	0.378
2	1	1	1	1	2	2	2	0.349
3	1	1	1	1	3	3	3	0.335
4	1	2	2	2	1	1	1	0.326
5	1	2	2	2	2	2	2	0.383
6	1	2	2	2	3	3	3	0.370
7	1	3	3	3	1	1	1	0.205
8	1	3	3	3	2	2	2	0.310
9	1	3	3	3	3	3	3	0.347
10	2	1	2	3	1	2	3	0.364
11	2	1	2	3	2	3	1	0.325
12	2	1	2	3	3	1	2	0.309
13	2	2	3	1	1	2	3	0.366
14	2	2	3	1	2	3	1	0.358
15	2	2	3	1	3	1	2	0.333
16	2	3	1	2	1	2	3	0.273
17	2	3	1	2	2	3	1	0.372
18	2	3	1	2	3	1	2	0.367
19	3	1	3	2	1	3	2	0.358
20	3	1	3	2	2	1	3	0.330
21	3	1	3	2	3	2	1	0.329
22	3	2	1	3	1	3	2	0.375
23	3	2	1	3	2	1	3	0.351
24	3	2	1	3	3	2	1	0.330
25	3	3	2	1	1	3	2	0.326
26	3	3	2	1	2	1	3	0.377
27	3	3	2	1	3	2	1	0.351

表3 方差分析

Table 3 Analysis of variance

方差来源	离均差平方和	自由度	平均差	F 值	P 值	显著性
校正模型	0.029	14	0.002	3.767	0.013	
交互	3.126	1	3.126	5 662.594	0.000	
A	0.001	2	0.001	0.907	0.430	
B	0.004	2	0.002	3.510	0.063	
C	0.002	2	0.001	1.905	0.191	
A×B	0.006	4	0.002	2.900	0.068	
B×C	0.016	4	0.004	7.123	0.004	P<0.05
误差	0.007	12	0.001			
总误差	3.162	27				
总校正误差	0.036	26				

2.4.3 显色方法的确定

按最佳显色方案选择制备条件。即精密吸取 1 mL 供试品溶液于 10 mL 量瓶中,依次加入 12.5% 醋酸溶液 0.1 mL, 7% 尿素溶液 2 mL, 0.5% 亚硝酸钠溶液 1 mL 混合均匀, 3 min 后加入 5% 氢氧化钠溶液 1 mL, 加水至刻度, 摇匀, 即得。

2.5 线性关系考察

分别精密吸取绿原酸对照品溶液 0、0.5、1.0、1.25、1.5、2.0 mL, 置 2 mL 量瓶中, 加水至刻度, 按“2.4.3”项下方法测定吸光度。以吸光度值为纵坐标, 绿原酸的质量为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程 $A=1.8831C+0.0074$ ($r=0.9995$)。结果表明绿原酸在 0.083~0.332 mg 与吸光度线性关系良好。

2.6 精密密度试验

按“2.4.3”项下方法将 0.166 mg/mL 绿原酸对照品溶液显色, 测定 6 次, 结果吸光度的 RSD 为 1.62%。

2.7 稳定性试验

取同一供试品溶液, 按“2.4.3”项下方法显色, 分别放置 0、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20 min, 测定。结果表明, 显色反应体系在 20 min 内稳定, RSD 为 3.63%。

2.8 重现性试验

取供试品溶液 6 份, 按“2.4.3”项下方法分别测定, 结果吸光度的 RSD 为 2.37%。

2.9 回收率试验

取同一批第 7 份抗感泡腾片提取液 6 份, 用水稀释至适宜质量浓度 (0.1~0.2 mg/mL), 分别精密量取 0.5 mL, 精确加入 0.166 mg/mL 绿原酸对照品溶液 0.5 mL, 按“2.4.3”项下方法操作, 测定, 计算得其平均加样回收率为 101.91%, RSD 为 1.65%。

2.10 样品测定

在抗感泡腾片生产制备的大孔树脂乙醇洗脱过

程中采集的 18 份提取液, 稀释至质量浓度在 0.083~0.332 mg/mL, 测定, 结果见图 1。结果表明, 该方法测得的酚酸类成分可以较直观地指示大孔树脂乙醇洗脱过程中该类成分的变化。

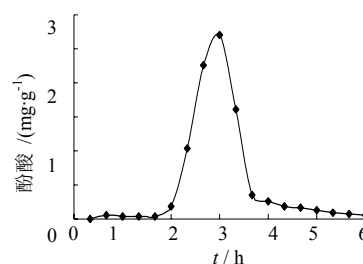


图1 抗感泡腾片生产过程中酚酸类成分的变化

Fig. 1 Changes of phenolic acids in production process of Kanggan Effervescent Tablet

3 讨论

采用亚硝酸钠等试剂显色后进行测定时, 反应时间和放置时间对吸光度的影响较明显, 故应严格加以控制, 注意空白液、对照品溶液、样品溶液加入各种试剂及测定时间的一致性。

笔者采用高效液相色谱法测得 3 批抗感泡腾片提取液中绿原酸的平均质量浓度为 0.77 mg/mL, 采用分光光度法测得其中酚酸类成分的平均质量浓度为 1.78 mg/mL。分光光度法测定结果更高, 更全面反映有效部位酚酸类成分的信息, 有利于生产过程中的质量控制, 且该法简便、准确、快速, 可作为抗感泡腾片的质量控制方法。

参考文献

- [1] 赵国玲, 刘佳佳, 林 丹, 等. 金银花化学成分及药理研究进展 [J]. 中成药, 2002, 24(12): 973-976.
- [2] 李 勃, 瞿 龙, 施树云. 苎麻叶中绿原酸的分光光度法测定 [J]. 广州化学, 2005, 30(2): 41-43.
- [3] 房信胜, 谭晓梅, 王建华. 大孔吸附树脂纯化丹参总酚酸的工艺研究 [J]. 中草药, 2006, 37(10): 1502-1504.