

金钱通淋颗粒质量标准研究

★ 冯丽华 石秋杰 (南昌大学理学院 南昌 330031)

关键词:金钱通淋颗粒;质量标准;薄层色谱法;高效液相色谱法
中图分类号:R 284.2 文献标识码:B

金钱通淋颗粒主要由忍冬藤、白茅根、石韦、金钱草等中药组成,具有清热祛湿,利尿通淋等功效,主要用于治疗泌尿系统结石、尿路感染、血尿等疾病,疗效很好。为更好地对该制剂进行质量控制,拟用薄层色谱法对其中的金钱草、忍冬藤、白茅根和石韦进行鉴别,采用高效液相色谱法测定绿原酸的含量,现报告如下:

1 材料与仪器

层析缸,薄层板涂布器(300 μm),玻璃板(10 cm \times 20 cm),硅胶 G(青岛海洋化工厂生产),水为超纯水,乙腈为色谱纯,所用试剂、试药均为分析纯。

金钱通淋颗粒(自制),金钱草对照药材和忍冬藤对照药材(均为中国药品生物制品检定所提供),石韦对照药材由江西省药检所袁桂平副教授鉴定后自制的,绿原酸对照品(中国药品生物制品检定所)。

高效液相色谱仪(LC-10AC,日本岛津);Mettler AE 163 电子天平;BUG25-06 型超声仪。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

2.1.1 金钱草 供试品溶液的制备:取本品 5 g,研细,加水 50 ml,加热使溶解,滤过,滤液置分液漏斗中,用醋酸乙酯振摇提取 4 次,每次 30 ml,合并提取液,蒸干,残渣加乙醇 1 ml 使溶解,作为供试品溶液。对照药材溶液的制备:取金钱草对照药材 2 g,加水 60 ml,煎煮 2 次,每次 1 小时,合并煎液,浓缩至约 20 ml,加乙醇 30 ml,搅匀,静置,滤过,滤液挥去乙醇,浓缩至约 10 ml,置分液漏斗中,用醋酸乙酯振摇提取 4 次,每次 10 ml,合并提取液,蒸干,残渣加乙醇 1 ml 使溶解,作为对照药材溶液。阴性对照溶液的制备:不加金钱草,其它药材依照处方、制法

及供试品溶液的制备方法同法制得阴性对照溶液。吸取上述 3 种溶液各 10 μl ,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上,以醋酸乙酯-甲苯-丁酮-甲酸(5: 5: 1: 0.2)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 三氯化铁乙醇溶液,热风吹至斑点显色清晰。结果:供试品色谱中,在与金钱草对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点而阴性对照溶液无此斑点。

2.1.2 忍冬藤 供试品溶液的制备:取本品 10 g,研细,加甲醇 50 ml,加热回流 1 小时,滤过,滤液蒸干,残渣加水 20 ml 使溶解,加氯仿 30 ml 振摇提取,弃去氯仿液,水溶液用水饱和的正丁醇振摇提取 2 次,每次 20 ml,合并正丁醇提取液,加氨试液振摇洗涤 2 次,每次 50 ml,弃去氨试液,正丁醇提取液蒸干,残渣加甲醇 1 ml 使溶解,作为供试品溶液。对照药材溶液的制备:忍冬藤对照药材 4 g,加水 50 ml,煎煮 30 分钟,滤过,滤液加氯仿 30 ml,同法制成对照药材溶液。阴性对照溶液的制备:不加忍冬藤,其它药材依照处方、制法及供试品溶液的制备方法同法制得阴性对照溶液。吸取上述三种溶液各 10 μl ,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-甲醇-水(13: 7: 2)的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰。结果:供试品色谱中,在与忍冬藤对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点而阴性对照溶液无此斑点。

2.1.3 石韦 供试品的制备:取本品 10 g,研细,加甲醇 50 ml,加热回流 1 小时,滤过,滤液蒸干,残渣加水 30 ml 使溶解,用醋酸乙酯-乙醇(8: 1)的混合溶液提取 3 次,每次 30 ml,合并醋酸乙酯液,蒸干,残渣加甲醇 1 ml 使溶解,作为供试品溶液。对照药

材溶液的制备:分别取庐山石韦、石韦、有柄石韦对照药材各 4g,分别按以下处理,加水 100 ml,煎煮 1 小时,滤过,滤液浓缩至 40 ml,用醋酸乙酯提取 3 次,每次 40 ml,合并醋酸乙酯液,蒸干,残渣加甲醇 1 ml 使溶解,作为对照药材溶液。阴性对照溶液的制备:不加石韦,其它药材依照处方、制法及供试品溶液的制备方法同法制得阴性对照溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2000 年版一部附录 VI B)试验,吸取上述五种溶液各 10 μ l,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上,以氯仿-丙酮-甲酸(10: 2: 0.5)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 三氯化铁乙醇溶液,热风吹至斑点显色清晰。结果:供试品色谱中,在与石韦对照药材色谱相应的位置上,显两个相同颜色的斑点,而阴性对照溶液无此斑点。

2.2 含量测定

2.2.1 供试品溶液的制备 取本品装量差异项下的内容物,研细,取 0.5 g,精密称定,精密加入 50% 甲醇 25 ml,称定重量,超声处理 30 分钟(功率 250 W,频率 25 kHz),放冷,再称定重量,用 50% 甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取经 120 $^{\circ}$ C 减压干燥至恒重的绿原酸对照品 9 mg,置 50 ml 量瓶中,加 50% 甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀即得对照品(每 1 ml 含绿原酸对照品 0.18 mg)。

2.2.3 色谱条件 C_{18} 色谱柱(250 nm \times 4.6 nm, 5 μ m);流动相:乙腈-0.4% 磷酸溶液(11: 89);流速:1.0 ml/min;柱温:室温;进样体积:5 μ l;检测波长:对标样溶液进行 200 ~ 400 nm 扫描,发现绿原酸在 327 nm 有最大吸收峰,因此检测波长为 327 nm。绿原酸在此色谱条件下的 tR 为 15 分钟。

2.2.4 阴性对照试验 取去忍冬藤、石韦的阴性对照样品,按供试品溶液制备方法制得空白溶液,测定,比较供试品溶液色谱及绿原酸对照品色谱,结果阴性样品中其他成分对绿原酸峰无干扰,且绿原酸有较好的色谱分离。

2.2.5 标准曲线的制备 精密称取 1、2、5、10、20 ml,分置 50 ml 容量瓶中,加入 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,分别取上述溶液各 10 μ l,注入高效色谱仪,按正文色谱条件测定峰面积,以峰面积积分为纵坐标,对照品进样量为横坐标,进行回归分析,得回归方程为: $Y = 3 \times 10^6 X - 6670.4$, $r = 0.9999$ 。结

果表明,绿原酸在 0.036 04 ~ 0.720 8 μ g 之间呈良好线性。

2.2.6 稳定性试验 精密吸取供试品溶液,在室温下,每隔 2 小时进样一次,结果供试品溶液中绿原酸在 12 小时内峰面积无明显变化,其 RSD 为 0.8%。

2.2.7 精密度试验 精密吸取相同浓度的绿原酸对照品溶液,进样 5 次,测定峰面积,结果 RSD 为 0.2% ($n = 5$)。

2.2.8 回收率试验 采用加样回收试验,精密称取已知含量的样品(含量 0.780 0 mg/g)适量,研细,精密称定,精密加入浓度为 0.007208 mg/ml 的绿原酸对照品的 50% 甲醇溶液 25 ml,按上述方法测定,计算回收率,结果平均加样回收率 = 99%, RSD = 1.5%。

2.2.9 重复性试验 取同一批样品 5 份,进行含量测定,平均含量为 0.780 0 mg/g, RSD 为 0.6% ($n = 5$)。

2.2.10 样品测定 按上述含量测定方法对三批样品进行绿原酸含量测定,测定结果见表 1。

表 1 10 批样品含量测定结果表

批号	绿原酸/mg \cdot 袋 ⁻¹	相对平均偏差(%)
1	7.88	0.2
2	8.00	0.1
3	8.08	0.8

3 讨论

(1)石韦的鉴别因《中国药典》2005 年版收载有庐山石韦、石韦、有柄石韦三个种,在实验中进行比较,三个种均显相同颜色的斑点,经多批实验,重现性好,且阴性无干扰,此法可行。

(2)本方由金钱草、忍冬藤、海金沙、白茅根、石韦组成,在工艺中采用水煮醇沉,五味药均没有独特的特征性成分可供测定。而忍冬藤功能为活血行气、祛风止痛。石韦功能为利尿通淋、清热止血。二者在本方中起重要作用,因而选择二者共有的绿原酸作为本品含量测定的指标。通过方法学研究,建立了高效液相色谱法测定忍冬藤、石韦中绿原酸含量的方法。

(3)本文提交的这 3 种薄层色谱鉴别及采用高效液相色谱法测定绿原酸含量的方法,简便,结果准确,重现性好,可以作为本制剂的质量控制指标。

(收稿日期:2007-03-26)