

金钱草颗粒剂质量标准的研究

沈德凤, 焦艳(佳木斯大学化学与药学院, 黑龙江 佳木斯 154007)

摘要: 目的 探讨金钱草颗粒剂的质量标准。方法 采用TLC对金钱草颗粒剂处方中的柴胡、延胡索及大黄进行定性鉴别; 采用HPLC对其主药金钱草中的槲皮素进行定量分析。结果 该方法定性鉴别薄层色谱特征明显, 专属性强; 样品中槲皮素在 $1.896\ 0\sim 30.336\ 0\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好($r=0.999\ 8$), 平均回收率为97.73%, RSD=1.34%。结论 用该方法作定性、定量分析简便、快速、专属性强, 可有效控制制剂的质量。

关键词: 金钱草; 颗粒剂; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 槲皮素

中图分类号: R943.3

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2009)08-0673-03

Studies on Quality Standard of *Herba Lysimachiae*

SHEN Defeng, JIAO Yan(College of Chemistry&Pharmacy, Jiamusi University, Jiamusi 154007, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE Study on quality standards for *Herba Lysimachiae* granules. **METHODS** Chinese thoroughax root, corydalis and Rhubarb of *Herba Lysimachiae* granules prescription were identified by TLC. The content of quercetin in *Herba Lysimachiae* granules was determined by HPLC. **RESULTS** The chromatogram for identification by TLC was distinct and highly specific. A good linear relationship was obtained in a range of quercetin concentrations from $1.896\ 0\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ to $30.336\ 0\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($r=0.999\ 8$). The average recovery was 97.73%, RSD was 1.34%. **CONCLUSION** The method is simple, rapid and specific, and can be used for the quality control of the mixture.

KEY WORDS: *Herba Lysimachiae*; granules; TLC; HPLC; quercetin

金钱草颗粒剂由金钱草、柴胡、延胡索、大黄中药组成。具有疏肝利胆、理气止痛的作用。用于胆囊炎、胆管炎等疗效显著。为了控制该药物的质量, 采用薄层色谱法对柴胡、延胡索及大黄进行鉴别^[1]; 采用HPLC测定方中金钱草的含量, 为金钱草颗粒剂的质量标准提供定性定量的检测方法。

1 仪器和试剂

FA-2004型电子分析天平(上海恒平科学仪器有限公司), Agilent 1100型高效液相色谱系统(美国

安捷伦公司)。

薄层色谱用硅胶G(青岛海洋化工厂), 所用试剂均为分析纯。槲皮素对照品(批号: 10081-9905, 纯度: 97.3%), 山奈素(批号: 110861-200405), 柴胡皂苷a(批号: 110777-200303), 柴胡皂苷d(批号: 110778-200301), 延胡索乙素(批号: 110726-200409), 大黄酸(批号: 757-9301), 均购于中国药品生物制品检定所。金钱草颗粒剂为自制。

2 方法与结果

作者简介: 沈德凤 女, 教授

Tel: 13846142258

E-mail: shenjms@yahoo.com.cn

2.1 鉴别

2.1.1 金钱草的薄层鉴别 取本品粉末 1 g, 加 80% 甲醇 50 mL, 加热回流 1 h, 放冷, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 10 mL 使溶解, 用乙醚振摇提取 2 次, 每次 10 mL, 弃去乙醚液, 水溶液加稀盐酸 10 mL, 置水浴中加热 1 h, 取出, 迅速冷却, 用乙酸乙酯振摇提取 2 次, 每次 20 mL, 合并乙酸乙酯液, 用水 30 mL 洗涤, 弃去水洗液, 乙酸乙酯液蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取槲皮素对照品、山奈素对照品, 加甲醇制成每 1 mL 各含 0.5 mg 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法试验, 吸取上述供试品溶液 5 μ L, 对照品溶液各 2 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-甲酸乙酯-甲酸(10:8:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干。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。

2.1.2 柴胡的薄层色谱鉴别 取本品粉末 0.5 g, 加甲醇 20 mL, 超声处理 10 min, 滤过, 滤液浓缩至约 5 mL, 作为供试品溶液。另取柴胡皂苷 a 对照品、柴胡皂苷 d 对照品, 加甲醇制成每 1 mL 各含 0.5 mg 的混合溶液, 作为对照品液。照薄层色谱法试验, 吸取上述 3 种溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以乙酸乙酯-乙醇-水(8:2:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 2% 对二甲氨基苯甲醛的 40% 硫酸溶液, 在 60 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰, 置日光及紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点或荧光斑点。

2.1.3 延胡索的薄层色谱鉴别 取本品粉末 1 g, 加甲醇 50 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 10 mL 使溶解, 加浓氨试液调至碱性, 用乙醚振摇提取 3 次, 每次 10 mL, 合并乙醚液, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作供试品溶液; 再取延胡索乙素对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液, 作为对照品液。照 TLC 实验, 吸取上述两种溶液各 2~3 μ L, 分别点于同一硅胶 G 板上, 以甲苯-丙酮(9:2)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置碘缸中约 3 min 后取出, 挥尽板上吸附的碘后, 在紫外灯(365 nm)下检视, 供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同的黄绿色荧光斑点。

2.1.4 大黄的薄层色谱鉴别 取本品粉末 0.1 g, 加甲醇 20 mL, 浸泡 1 h, 滤过, 取滤液 5 mL, 蒸

干, 残渣加水 10 mL 使溶解, 再加盐酸 1 mL, 加热超声 30 min, 立即冷却, 用乙醚振摇提取 2 次, 每次 20 mL, 合并乙醚液, 蒸干, 残渣加三氯甲烷 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取大黄对照药材 0.1 g, 同法制成对照药材溶液。再取大黄酸对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液, 作为对照品液。照 TLC 实验, 吸取上述两种溶液各 4 μ 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, 以石油醚(30~60 $^{\circ}$ C)-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1)的上层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 在紫外灯(365 nm)下检视, 供试品色谱中, 在与对照药材、对照品色谱相应的位置上, 显相同的橙黄色荧光斑点。

2.2 金钱草颗粒剂中槲皮素的含量测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验 ZORBAX XDB-C₁₈ 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5.0 μ m); 以甲醇-0.4% 磷酸溶液(50:50)为流动相; 检测波长为 360 nm。理论板数按槲皮素峰计算应不低于 2 500。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品粉末(过三号筛)约 1.5 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 80% 甲醇 50 mL, 密塞, 称定重量, 加热回流 1 h, 放冷, 再称定重量, 用 80% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过。精密量取续滤液 25 mL, 精密加入盐酸 5 mL, 置 90 $^{\circ}$ C 水浴中加热水解 1 h, 取出, 迅速冷却, 转移至 50 mL 量瓶中, 用 80% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.3 对照品溶液的制备 精密称取槲皮素对照品适量, 加 80% 甲醇制成每 1 mL 含槲皮素 4 μ g 的溶液, 即得。

2.2.4 线性关系 精密称取槲皮素对照品 9.48 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加 80% 甲醇稀释至刻度, 再精密吸取各 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 mL 溶液, 分别置 10 mL 量瓶中, 加 80% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 分别精密吸取 5 μ L, 注入高效液相色谱仪, 按上述色谱条件测定色谱峰面积, 以进样浓度为横坐标, 色谱峰面积的积分值为纵坐标, 绘制标准曲线, 计算得回归方程为: $Y=20.249\ 090\ 7X-1.203\ 358\ 4$ ($r=0.999\ 8$), 表明槲皮素进样浓度在 1.896 0~30.336 0 μ g $\cdot$ mL⁻¹ 内线性关系良好。

2.2.5 仪器精密度试验 精密量取上述对照品溶液, 重复进样 6 次, 每次 5 μ L。结果槲皮素的峰面积 RSD 为 0.85%。表明该测定方法仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液 5 μL ，分别于配制后 0，2，4，8，16，24 h 进样，结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。槲皮素的含量 RSD 为 1.65%。

2.2.7 重复性试验 取同一批号样品(批号：20071102)，按“2.2.2”项下方法操作，平行 6 份，按上述色谱条件测定，结果槲皮素含量平均值为 0.015 8%，RSD 为 0.62%。表明该方法重复性良好。

2.2.8 加样回收率试验 取已知含量的样品 6 份，精密测定，精密添加同量的槲皮素对照品适量，按“2.2.2”项下方法操作，计算回收率，结果平均回收率为 97.73%，RSD=1.34%($n=6$)。结果见表 1。

表 1 回收率试验结果($n=6$)

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

样品中含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
0.168 0	0.215 1	0.373 1	95.35		
0.198 8	0.215 1	0.410 2	98.28		
0.202 0	0.215 1	0.413 2	98.19	97.73	1.34
0.234 0	0.215 1	0.443 1	97.21		
0.255 0	0.215 1	0.467 9	98.98		
0.233 9	0.215 1	0.445 7	98.47		

2.2.9 样品含量测定 3 个批号金钱草颗粒剂含量测定按“2.2”项下方法制备对照品溶液与供试品溶液，分别精密吸取 5 μL ，按上述色谱条件测定并计算含量，3 批样品含量分别 0.011 2%，0.017 0%，0.015 6%。

3 讨论

复方金钱草颗粒剂是由金钱草、柴胡、延胡索、大黄为原料的复方制剂。据文献报道，金钱草全草含槲皮素，槲皮素-3-O-葡萄糖苷，山柰酚，山柰酚-3-半乳糖苷，山柰酚-3-葡萄糖苷，对羟基苯甲酸，尿嘧啶，多糖，氨基酸等^[2]。黄酮类化合物是其主要成分，而其苷元大多数为槲皮素，关于金钱草中黄酮类化合物的含量研究，相关报道较少，且黄酮类化合物具有明确的抗炎活性，故本实验采用高效液相色谱法测定了游离黄酮苷元槲皮素的含量，作为定量分析指标，具有质量可控制性依据。

REFERENCES

[1] Ch.P(2005)Vol I (中国药典 2005 年版.一部) [S]. 2005: 198.
[2] SONG L R, HONG X, DING X L, et al. Dictionary of Modern Traditional Chinese Pharmacology(现代中药学大辞典) [M]. 1st ed. Beijing: People's Health Press, 2001: 1321.

收稿日期：2008-07-11