

石淋通颗粒质量标准的研究

赵志军, 葛智鑫(河北省药品检验所, 河北 石家庄 050011)

摘要:目的 制定石淋通颗粒的质量标准。方法 对方剂中的广金钱草进行了薄层鉴别。用紫外分光光度法测定了制剂中总黄酮的含量。检测波长为 274nm。结果 薄层鉴别方法专属性强, 含量测定通过方法学考察, 总黄酮以芦丁计在 0.050125mg~0.30075mg 范围内, 呈良好的线性关系。芦丁的平均回收率为 99.40% ($n=9$), RSD 为 0.93%。结论 方法简便、准确、重现性好。可用于控制石淋通颗粒质量。

关键词:石淋通颗粒; 总黄酮; 芦丁; 紫外分光光度法; 广金钱草

中图分类号: R282.710.3 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2006)08-0783-03

Studies on quality standards for Shilintong Granule

ZHAO Zhi-jun, GE Zhi-xin(Hebei Provincial Institute for Drug Control, Shijiazhuang 050011, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish quality control method for Shilintong Granule. **METHODS** Thin layer chromatography was used for identification of Herba Desmodii Styracifolii. The content of total flavone (by Rutin computing) in preparation was determined with UV-spectrophotometry. The wavelength of detection was 274nm. **RESULTS** The method of TLC identification was specificity. The linearity for Rutin was obtained over the range of 0.050125mg~0.30075mg, The average recovery of Rutin was 99.4% and RSD was 0.93% ($n=9$). **CONCLUSION** The method is simple and feasible, highly accurate and precise. It can be used for the quality control of Shilintong Granule.

KEY WORDS: Shilintong Granule, total flavone, Rutin, UV-spectrophotometry, Herba Desmodii Styracifolii

石淋通颗粒为广金钱草 1 味中药制成的制剂, 具有清湿热, 利尿, 排石的功效, 临床用于尿路结石, 肾盂肾炎, 胆囊炎。其质量标准收载于《卫生部药品标准-中药成方制剂》第 8 册^[1], 原标准项下只有 2 项试管反应, 专属性差, 为全面控制其制剂质量, 笔者参阅有关文献^[1-3]对方剂中的广金钱草进行了薄层鉴别, 鉴别专属, 斑点清晰, 同时由于处方中广金钱草所含主要成分为黄酮类, 故选用测定样品中总黄酮含量(以芦丁计)来控制制剂质量。含量测定方法简便、快捷、准确。

1 仪器和试剂

紫外可见分光光度计: 日本 Multispec-1501; 芦丁对照品(中国药品生物制品检定所提供, 0080-9705, 供含量测定用); 广金钱草对照药材(中国药品生物制品检定所, 批号: 121248-0301); 石淋通颗粒与处方中各味药材由河北以岭医药研究院有限公司提供; 所用试剂为分析纯。硅胶 G 由青岛海洋化工厂生产。

2 薄层鉴别

2.1 广金钱草薄层鉴别

取本品 10g, 加水 30mL 使溶解, 加稀盐酸调 pH 至 2~3, 移至分液漏斗中, 用醋酸乙酯 25mL 振摇提取 1 次, 分取醋

酸乙酯层, 加 2% 碳酸钠溶液 25mL 振摇提取 1 次, 弃去醋酸乙酯层, 碱液层用稀盐酸调 pH 值至 2~3, 用醋酸乙酯 25mL 振摇提取 1 次, 分取醋酸乙酯层, 挥干, 残留物加甲醇 1mL 使溶解, 作为供试品溶液; 另按处方量制备除去广金钱草的阴性样品, 同法制成阴性供试品溶液。另取广金钱草对照药材 5g, 加 65% 乙醇 80mL 超声提取 20min, 滤过, 滤液蒸干, 残留物加甲醇 1mL 使溶解, 作为对照药材溶液。吸取上述三种溶液各 10 μ L, 交叉点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-氯仿-丙酮-甲醇(7:5:6:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 1% 三氯化铝乙醇溶液, 在 105 $^{\circ}$ C 烘约 5~10min, 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, 显相同颜色的斑点。而阴性对照样品此处无斑点。

3 含量测定

3.1 测定波长选择

用紫外可见分光光度计测定了芦丁对照品、石淋通颗粒供试品、广金钱草阴性样品的光谱吸收曲线, 在 300~210nm 波长范围内扫描。确定 274nm 为测定波长。石淋通颗粒供试品最大吸收波长为 276nm, 芦丁对照品的最大吸收波长为 271nm, 由于石淋通颗粒中含有的是多种黄酮, 并不含有芦

丁,而是本品含总黄酮以芦丁计来测定含量。因此兼顾二者的最大吸收波长,选定 274nm 为测定波长直接测定对照品和样品的吸收值。广金钱草阴性对照在所选定的测定波长相应处没有吸收,说明其不干扰总黄酮的检测。

3.2 回流时间考察

广金钱草的提取工艺为水煮提取,从理论上讲,所提得的成分溶解成均一溶液即可,但考虑本颗粒剂含有的总黄酮的性质在热水中溶解度大,故考察了超声提取 40min、直接回流 2h、索氏提取 5h 和浸渍过夜后回流提取 30、60、90、120min 的提取效果。结果表明:样品超声处理 40min 含量最低,索氏提取 5h 与浸渍过夜后回流提取 30、60、90、120min 的提取效果无明显差异,故提取时间定为浸渍过夜后回流提取 30min。

3.3 标准曲线制备

取芦丁对照品,加 65% 的乙醇配制成每 mL 含 0.10025 mg 的溶液,精密吸取 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0mL,分别置 10mL 量瓶中,加醋酸-醋酸钠缓冲溶液(pH4.6)1mL,0.1 mol/L 三氯化铝溶液 1 mL,摇匀,加 30% 乙醇稀释至刻度,摇匀,以相应的试剂为空白。照分光光度法(中国药典 2000 年版一部附录 VB)试验,在 274nm 波长处直接测定吸收度,以吸收度(A)和浓度(C)建立回归方程: $A = 3.616C + 0.0191, r = 0.9998$ 。

结果表明:芦丁对照品的取样量在 0.050125mg ~ 0.30075mg 范围内,与吸收度成良好的线性关系。六个点基本都在回归方程的直线上,因此考虑取直线上的任意两点做回归方程来计算样品的含量,应该与六点做回归方程所计算的样品含量一致,为印证以上想法,我们取直线上任意两点进行测定并计算的样品含量与六点进行测定并计算的样品含量进行了对比研究,详细结果见表 1。

表 1 直线上任意两点计算的样品含量与六点计算的样品含量结果比较

Tab 1 The results of different methods determination

芦丁对照品所取点	样品含量(mg/g)	RSD%
六个点	10.81	
0.1mg 和 0.3 mg 处两点	10.81	
0.05mg 和 0.15 mg 处两点	10.50	1.24
0.1mg 和 0.2mg 处两点	10.67	
0.15mg 和 0.3 mg 处两点	10.78	

由上表可知:选取直线上的任意两点做回归方程来计算样品的含量与六点做标准曲线所计算的样品含量无差异,因此,为了药厂在生产中检测简便快捷,经过上述考察,在含量测定中取外标两点法直接测定供试品中总黄酮含量,可代替标准曲线法来测定供试品中总黄酮含量,节省了大量人力、物力。

3.4 对照品溶液的制备

精密称取在 120℃ 干燥至恒重的芦丁对照品 20mg,置 100mL 量瓶中,加 65% 乙醇 70mL,置水浴上微热使溶解,放冷,加 65% 乙醇至刻度,摇匀。精密量取 5mL,置 10mL 量瓶

中,加水至刻度,摇匀,即得(每 1 mL 含无水芦丁 0.1 mg)。

3.5 供试品溶液的制备

取本品适量,研细,取 0.6g,精密称定,置具塞三角瓶中,精密加入 65% 乙醇 25mL,称定重量,静置过夜,水浴中加热回流 0.5h,放至室温,再称定重量,用 65% 乙醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液即得。

测定法 精密吸取对照品溶液 1.0mL、3.0mL,供试品溶液 1.0mL 分别置 10 mL 量瓶中,加醋酸-醋酸钠缓冲溶液(pH4.6)1 mL,0.1mol/L 三氯化铝溶液 1 mL,摇匀,加 30% 乙醇稀释至刻度,摇匀,以相应的试剂为空白。放置 20min 后,照分光光度法(中国药典 2000 年版一部附录 VB)试验,在 274nm 固定波长处直接测定吸收度,以外标两点法计算供试品溶液中总黄酮的含量,即得。

3.6 精密度实验

取芦丁对照品溶液及供试品溶液,照测定法各测定 5 次,测定吸收度值,芦丁对照品五次测定的平均值为 0.5692, RSD 为 0.13%;供试品五次测定的平均值为 0.6237, RSD 为 0.12%。说明仪器性能良好。

3.7 稳定性试验

取芦丁对照品与供试品溶液,加入不同 pH 值的缓冲液,照测定法每隔一定时间测定 1 次,考察了 2h 的稳定性,结果见表 2。

表 2 芦丁对照品与供试品的稳定性考察

Tab 2 The stability of Rutin and samples

时间 (min)	对照品 pH4.6 缓冲液	供试品 pH4.6 缓冲液	时间 (min)	对照品 pH6.0 缓冲液	供试品 pH6.0 缓冲液
0	0.5559	0.5669	0	0.6610	0.5570
20	0.5563	0.5802	15	0.6796	0.5711
25	0.5741	0.6181	30	0.7017	0.6262
45	0.5715	0.6248	36	0.7391	0.6551
65	0.5671	0.6241	40	0.7795	0.6802
95	0.5658	0.6194	43	0.8042	0.7045
140	0.5563	0.6152	47	0.8480	0.7510
25min 后 RSD%	1.21	0.66	RSD%	9.27	10.81

结果表明:对照品与供试品在加入醋酸-醋酸钠缓冲溶液(pH4.6)1 mL,0.1mol/L 三氯化铝溶液 1 mL 并放置 20min 后再进行测定,2h 内稳定。

3.8 重复性试验

取同一批供试品,取高、中、低剂量按样品测定项下方法操作,测定,计算含量。同一批供试品 9 次测定的总黄酮平均含量为 10.41mg · g⁻¹, RSD 为 0.68%。说明方法重现性良好。

3.9 回收率试验

取同一批供试品各 9 份,加入一定量的对照品,按供试品制备所述方法测定含量(同时测定样品含量),计算回收率。9 次测定的平均回收率为 99.40%, RSD 为 0.93%。

3.10 样品含量测定

取样品 3 批,参照“3.5”项下操作,测定石淋通颗粒样品中总黄酮含量,结果分别为 154.5 mg · 袋⁻¹, 158.2 mg ·

袋⁻¹和 151.4 mg·袋⁻¹。

4 讨论

4.1 石淋通颗粒是由广金钱草一味中药组成。广金钱草所含主要成分为新西兰牡荆苷 I, 夏弗塔雪轮苷, 新西兰牡荆苷 III 等多种黄酮类成分, 由于目前尚无上述对照品, 无法以它们为对照进行定量研究, 参阅中国药典(2000 年版)^[2]品种独一味胶囊、益心酮片、排石颗粒和消咳喘糖浆等品种中均含有各类黄酮类成分, 也并不含有芦丁, 但它们都是以芦丁为对照来测定总黄酮含量的, 因此考虑石淋通颗粒也以芦丁为对照来测定总黄酮含量, 故选用测定石淋通颗粒中总黄酮含量(以芦丁计)为定量指标进行含量测定方法的研究。

4.2 本实验拟定的薄层鉴别, 方法可靠, 专属性强, 含量测定方法简便、快捷、准确、重现性好, 可有效控制石淋通颗粒的质量。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会编. 卫生部药品标准-中药成方制剂[S]. 第 8 册. 1993 年:51.
- [2] 中国药典 2000 年版一部[S]. 2000:533, 563, 578, 567.
- [3] 国家药品监督管理局编. 国家中成药标准汇编(中成药地方标准上升国家标准部分-内科肾系分册)[S]. 2002 年:80-81.

收稿日期:2005-01-12