

尿感宁颗粒的质量标准研究

唐登峰¹, 李萌², 张鹏³

(1. 浙江省食品药品检验所, 杭州 310004; 2. 杭州民生药业有限公司, 杭州 310011;
3. 浙江中医药大学药学院, 杭州 310053)

[摘要] 目的: 建立尿感宁颗粒(无糖型)简单、快捷的质量控制方法。方法: 采用薄层色谱法对尿感宁颗粒中的连钱草、凤尾草进行定性鉴别, 用高效液相色谱法对尿感宁颗粒中秦皮乙素的含量进行测定, 色谱柱为 C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 流动相为甲醇-0.5% 磷酸(28:72), 检测波长为 345 nm。结果: 连钱草、凤尾草和紫花地丁薄层色谱分离良好, 斑点清晰可见; 含量测定中秦皮乙素的含量在 20.08 ~ 2 080 ng 内线性关系良好, 平均加样回收率为 96.3%, RSD 1.9%, n = 6。结论: 方法结果准确、重复性好, 可作为该制剂的质量控制方法。

[关键词] 连钱草; 凤尾草; 紫花地丁; 秦皮乙素; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)14-0061-03

Studies on Quality Standard of Niaoganning Granule

TANG Deng-feng¹, LI Meng², ZHANG Peng³

(1. Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310004, China; 2. Zhejiang Mingsheng Pharmaceutical Co. Ltd, Hangzhou 310011, China; 3. Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310053, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the quality standard for Niaoganning Granule. **Method:** The TLC was applied to identify Herba Glechomae Longitubae and Herba Pteridis Nervosae in this prescription, and aesculetin content in Herba Violae was determined by HPLC. A column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) was used with the mobile phase of methanol and 0.5% phosphoric acid (22:78) at the detection wavelength of 345 nm. **Result:** Glechomae Longitubae and Pteridis Nervosae could be identified by TLC. The aesculetin linear rang of 20.08-2 080 ng, and the average recovery was 96.3%, RSD 1.9%. **Conclusion:** The above methods are simple, sensitive, accurate and reproducible, and can be used for the quality control of this granule.

[Key words] Glechomae Longitubae; Pteridis Nervosae; Violae; aesculetin; TLC; HPLC

尿感宁颗粒由海金沙藤、连钱草、凤尾草、菴草和紫花地丁等 5 味药组成, 收载于卫生部药品标准第五册(标准编号为: WS3-B-0949-91), 具有清热解毒, 利尿通淋的功效, 用于膀胱湿热所致淋症, 症见尿频、尿急、尿道涩痛, 尿色偏黄, 小便淋漓不尽等; 慢性尿路感染见上述症候等。但尿感宁颗粒现行标准中仅有性状鉴别和颗粒剂的常规检查, 质量标准不完善, 难以有效控制该品种的质量。本研究建

立了尿感宁颗粒(无糖型)中连钱草和凤尾草的薄层色谱鉴别方法, 同时建立了以高效液相色谱法测定紫花地丁中秦皮乙素含量的定量方法, 为该制剂质量标准的建立提供了可行的方法及依据。

1 仪器与试剂

Agilent1100 液相色谱仪, 包括 G1311A 四元泵, G1322A 脱气机, G1313A 自动进样器, G1314A 紫外可见检测器, G1316A 柱温箱。紫外分光光度计为 TU-1901; 秦皮乙素对照品(批号 110741-200506, 供含量测定用), 连钱草对照药材(批号 121386-200401), 凤尾草对照药材(批号 121312-200301); 均由中国药品生物制品检定所提供; 尿感宁颗粒(无

[收稿日期] 20100609(004)

[第一作者] 唐登峰, Tel: 0571-86459414, E-mail: dengfengtang@ hotmail. com

糖型)批号为 0701003,0707011,0803007,均由市场购得,方法学考察选用样品的批号为 0701003;硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工);甲醇为色谱纯,水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 连钱草薄层色谱鉴别 取本品 1 袋,研细,加甲醇 50 mL,水浴回流 1 h,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加水 20 mL 使溶散,用乙酸乙酯振摇提取 2 次,每次 20 mL,合并乙酸乙酯液,水浴蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取连钱草对照药材 1 g,同法制成对照药材溶液。吸取上述 2 种溶液各 1 μ L,分别点于同一聚酰胺薄膜上,以乙酸-甲醇-水(2:1:2)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视,在与对照药材色谱主斑点相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。缺味无干扰,见图 1。

2.2 凤尾草薄层色谱鉴别 取连钱草薄层色谱鉴别

项下的供试品溶液,作为凤尾草鉴别用供试品溶液。另取凤尾草对照药材 1 g,同供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。吸取供试品溶液和凤尾草对照药材溶液各 10 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以环己烷-丙酮-乙酸乙酯(5:1:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 香草醛硫酸溶液,在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。在与对照药材色谱主斑点相应的位置上,显相同颜色的斑点。缺味无干扰,见图 2。

2.3 秦皮乙素的含量测定

2.3.1 色谱条件 Kromasil C_{18} 柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m);流动相甲醇-0.5% 磷酸溶液(22:78);

检测波长 345 nm;柱温 30 $^{\circ}$ C;流速 1.0 mL \cdot min⁻¹;理论塔板数按秦皮乙素峰计算不低于 3 000。

2.3.2 对照品溶液的制备 取秦皮乙素对照品适量,精密称定,加甲醇制成 20 mg \cdot L⁻¹ 的溶液,作为对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 取装量差异项下的本品,研细,取约 1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 60% 甲醇 50 mL,称定质量,水浴回流 1.5 h,放冷,再称定质量,用 60% 甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液 25 mL,水浴蒸干,残渣加水 15 mL 使溶散,用乙酸乙酯振摇提取 4 次,每次 15 mL,合并乙酸乙酯液,水浴蒸干,残渣用 60% 甲醇溶解,转移至 10 mL 量瓶中,加 60% 甲醇至刻度,摇匀,即作为供试品溶液。

2.3.4 缺味制剂的制备 取不含紫花地丁的阴性制剂适量,按供试品项下同法制成缺紫花地丁的阴性制剂。

2.2.5 方法专属性 在本实验条件下,取秦皮乙素对照品溶液、空白对照液、供试品溶液分别进样 10 μ L。见图 3。缺味无干扰,秦皮乙素色谱峰周边无干扰,与其他峰分离度大于 1.5,理论板数按秦皮乙素峰计算不低于 3 000。

2.2.6 线性范围 精密量取秦皮乙素对照品储备液 20.80 g \cdot L⁻¹ 逐步稀释至最低浓度为 0.002 08 g \cdot L⁻¹ 的系列对照品溶液,分别精密吸取 10 μ L 注入高效液相色谱仪,记录色谱图。以对照品峰面积为纵坐标 Y,对照品溶液进样量为横坐标 X,绘制标准工作曲线,得

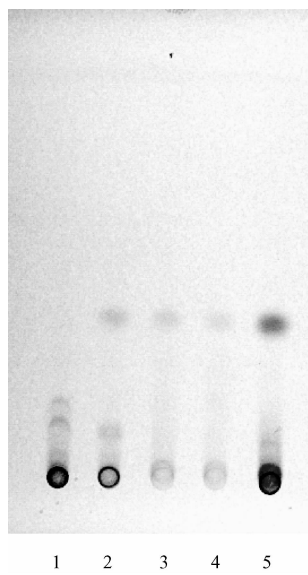


图 2 凤尾草的薄层鉴别

1. 阴性样品;2,3,4. 各批样品;
5. 凤尾草对照药材

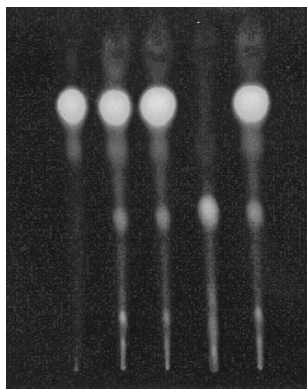


图 1 连钱草的 TLC

1. 阴性样品;2,3,5. 样品;
4. 连钱草对照药材

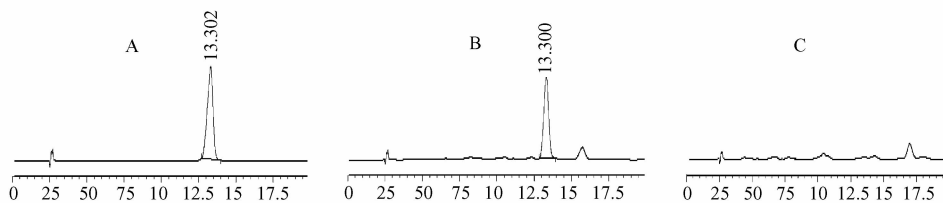


图 3 秦皮乙素对照品(A)、样品(B)和缺味制剂(C)的 HPLC 色谱

回归方程为 $Y = 82.735X + 10.746$, $r = 0.9999$ 。秦皮乙素在 20.08 ~ 2080 ng 线性良好。

2.2.7 重复性试验 精密称取批号为 0701003 的供试品 6 份,按 2.2.3 项下方法处理,进样测定,含量平均值为 $0.318 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 2.8% ($n = 6$),说明方法的重复性较好。

2.2.8 回收率试验 精密称取已知含量样品(批号 0701003)6 份,每份 0.5 g,分别加秦皮乙素对照品储备液适量,按 2.2.3 项下制备,依法测定。结果见表 1。

表 1 秦皮乙素加样回收试验

称样量 /g	已知量 /mg	添加量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD/%
0.4909	0.1593	0.156	0.310	96.57		
0.4903	0.1591	0.156	0.311	97.18		
0.4918	0.1596	0.156	0.312	97.71	96.28	1.86
0.4921	0.1597	0.156	0.306	94.00		
0.4928	0.1599	0.156	0.313	98.24		
0.4934	0.1601	0.156	0.307	94.26		

2.2.9 样品含量的测定 分别取 3 批尿感宁颗粒样品,每批 2 份约 1.0 g,精密称定,按 3.2.1 项下处理进样测定,外标法计算秦皮乙素的含量,结果见表 2。

表 2 尿感宁颗粒中秦皮乙素含量测定

批号	秦皮乙素 /mg·g ⁻¹		均值 /mg·g ⁻¹	RSD /%
0701003	0.323	0.326	0.32	0.56
0707011	0.607	0.600	0.60	0.58
0803007	0.259	0.258	0.26	0.18

3 讨论

3.1 连钱草薄层色谱条件的建立 文献有以熊果酸对照品为对照进行鉴别^[1],由于熊果酸在植物药中广泛存在,专属性意义不大,同时考虑到连钱草的临床使用中存在同名异物、混用或误用的可能性较大^[2],虽然文献报道连钱草含有有机酸、萜类以及黄酮类化合物^[3],但对这些成分是否在尿感宁颗粒中为连钱草特有成分,目前尚不清楚,为了更好地与混伪品相区分,在薄层色谱鉴别中采用了连钱草的对照药材作为对照,经验证方法具有较好专属性。

3.2 含量测定波长的选择 试验中测得秦皮乙素在流动相中的紫外最大吸收波长为 344.5 nm,考虑到光谱扫描曲线上在 345 nm 处较平坦,结合文献^[1],确定检测波长为 345 nm。

3.3 含量测定提取方法的研究 由于处方中有 5 味药,均为水加热提取,成分较为复杂,在秦皮乙素含量测定方法建立中,对主要影响因素进行考察。选择提取溶剂时,曾考察用不同浓度甲醇、不同浓度的乙醇进行提取,结果以 60% 甲醇作为提取溶剂时,其样品中秦皮乙素提取较完全;在提取方法考察时,以 60% 的甲醇为溶剂,比较超声和回流两种方法,试验显示回流的方法提取完全;比较不同回流提取时间,结果是回流 1.5 h 时基本提取完全,故确定回流提取和时间为 1.5 h;同时对萃取是否完全进行考察:取含量测定项下经乙酸乙酯提取 4 次后的溶液,继续用乙酸乙酯振摇提取 2 次,每次 20 mL,合并乙酸乙酯液,水浴蒸干,残渣以 60% 甲醇转移 5 mL 量瓶中,加 60% 甲醇至刻度,摇匀,按上述色谱条件进样 20 μL ,结果色谱图中在与对照品保留时间相一致的地方未见色谱峰,认为正文中含量测定项下乙酸乙酯萃取转移完全。

3.4 流动相的选择 采用了不同的流动相。在甲醇-0.5% 磷酸(22:78)条件下,色谱分离完全,峰形对称,而且在选定的检测波长下,其他成分的吸收较弱,有利于秦皮乙素的测定。

由于市场上已难以见到含糖型的制剂,故本方法仅针对尿感宁颗粒(无糖型)目前质控指标少而研究,经方法学验证,认为对连钱草和凤尾草的鉴别以及样品中秦皮乙素的含量测定可作为尿感宁颗粒(无糖型)的质量控制手段。

[参考文献]

[1] 中国药典.一部[S].2005:117,529.
 [2] 杨安荣,杨培君,彭强.四种商品金钱草的辨析及鉴别[J].时珍国医国药,2005,16(9):835.
 [3] 王庆,段金厥,钱大玮,等.不同产地连钱草中三萜酸类及黄酮类成分的分析与评价[J].南京中医药大学学报,2006,22(1):44.

[责任编辑 顾雪竹]