

痛风颗粒热稳定性考察

刘振丽¹, 乔淑珍², 宋志前¹

(1 中国中医研究院基础理论研究所, 北京 100700; 2 北京中医药大学中药学院, 北京 100029)

摘要: 目的: 以痛风颗粒中二苯乙烯苷、丹皮酚含量为指标考察其稳定性。方法: 采用恒温加速试验测定稳定性。二苯乙烯苷含量测定采用高效液相色谱法, 丹皮酚含量测定采用紫外分光光度法。结果: 在室温条件下, 以二苯乙烯苷为标准, 痛风颗粒的有效期为360日; 以丹皮酚为标准, 其有效期为1.65年。

关键词: 痛风颗粒; 稳定性; 二苯乙烯苷; 丹皮酚

中图分类号: R283.6 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2003)06-0003-03

痛风颗粒是由制何首乌、土茯苓、徐长卿等组成的复方制剂。具有清热解毒, 泄化浊淤, 消肿定痛的功效。2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷(简称: 二苯乙烯苷)是制何首乌中有效成分之一, 具有降低胆固醇^[1]和保肝作用^[2]。丹皮酚为徐长卿的主要有效成分, 具有降压和镇痛作用^[3]。为了探讨制剂的稳定性, 本文以制何首乌中的二苯乙烯苷、徐长卿中的丹皮酚含量变化为指标, 应用动力学原理考察其稳定性^[4]。

1 仪器与试剂

仪器: HP1100 高效液相色谱仪, 附有 G1322A 脱气机, G1311A 四元泵, G1316A 恒温箱, G1314A VWD 检测器, HP 化学工作站。752C 可见紫外分光光度计(上海分析仪器总厂)。试剂: 乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂为分析纯。二苯乙烯苷对照品(批号: 0844-200003 定量用)、丹皮酚对照品(批号: 0708-9003 定量用), 购于中国药品生物制品检定所。痛风颗粒为本所自制。

2 样品含量测定

2.1 二苯乙烯苷含量测定方法

2.1.1 色谱条件 色谱柱: Waters symmetryTM C₁₈ 3.0 × 150mm, SentryTM Guard column Symmetry C₁₈ 3.9 × 20 mm, 流动相: 乙腈-水(22: 78), 流速: 0.8ml/min, 检测波长: 320nm, 柱温: 30℃。

2.1.2 二苯乙烯苷标准曲线的制备: 精密称取二苯乙烯苷对照品于棕色量瓶中, 用流动相配制成每1ml含0.03mg的溶液。精密吸取1, 3, 5, 7, 9ml注入液相色谱仪, 按二苯乙烯苷色谱条件测定, 以测得的峰面

积分为纵坐标, 进样量为横坐标, 绘制标准曲线, 求得回归方程: $Y = -8.95 + 3086.6X$, $r = 0.9998$ 。表明二苯乙烯苷在0.03~0.27μg范围内具有良好的线性关系。

2.1.3 供试品溶液的制备及二苯乙烯苷含量测定 依药典法进行^[5]。取样品0.2g(过4号筛), 精密称定, 置锥形瓶中, 精密加入25ml 50%乙醇, 称定重量。加热回流30min, 放冷, 再称重, 用50%乙醇补足减失的重量, 摇匀, 上清液用0.45μm微孔滤膜滤过, 取续滤液进样(必要时适当稀释), 测定峰面积, 计算样品中二苯乙烯苷含量。

2.2 丹皮酚含量测定方法

2.2.1 测定波长的选择 分别取痛风颗粒、徐长卿阴性颗粒(过4号筛)适量, 置圆底烧瓶中, 加入蒸馏水, 接收蒸馏液, 测定样品的紫外可见吸收光谱图(见图1)。结果表明, 徐长卿的阴性颗粒在274nm处吸收度小于0.1。因此, 认为无干扰, 选择274nm作为丹皮酚测定波长。

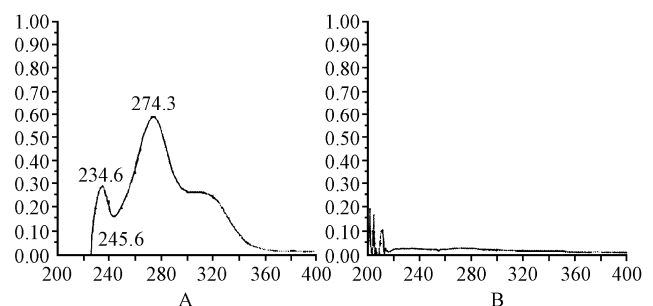


图1 紫外可见吸收光谱图

A 痛风颗粒; B 徐长卿的阴性颗粒

2.2.2 丹皮酚标准曲线的制备 取丹皮酚对照品5mg, 精密称定, 加入蒸馏水超声溶解, 定量转移到

50ml 容量瓶中, 定容, 得对照品溶液。精密吸取 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8ml, 分别置于 10ml 量瓶中, 加蒸馏水定容, 摇匀。用 752C 型紫外可见分光光度计在 274nm 波长处测定吸收度, 绘制标准曲线, 得到回归方程: $Y = 0.0290 + 0.0701X$, $r = 0.9997$ 。表明丹皮酚在 4.0~ 8.0 μ g 范围内具有良好的线性关系。

2.2.3 样品中丹皮酚含量测定 取样品 0.4g(过四号筛), 精密称定, 置圆底烧瓶中, 加入 350ml 蒸馏水, 共水蒸馏, 接收蒸馏液约 240ml, 定容于 250ml 量瓶中, 以蒸馏水为空白, 用 752C 型紫外可见分光光度计在 274nm 波长处测定吸收度。

3 痛风颗粒稳定性试验

3.1 实验方法 将样品密封于玻璃安瓿中, 分别置于 60 $^{\circ}$ C、70 $^{\circ}$ C、80 $^{\circ}$ C、90 $^{\circ}$ C 恒温水浴中, 定时取样, 冷却备用, 分别测定样品中二苯乙烯苷(结果见表 1)、丹皮酚含量(结果见表 2)。

表 1 各试验温度条件下二苯乙烯苷含量测定结果

温度 (°C)	取样时间 (h)	含量 C (mg/g)	lg C	回归方程
60	0	9.272	2	$\lg C = 2.00018 - 0.000350t$
	20	9.145	1.9940	$r = -0.9985$
	40	8.965	1.9854	$K = 0.00080605$
	60	8.834	1.9790	
	80	8.703	1.9725	
70	0	9.272	2	$\lg C = 2.0008 - 0.001423t$
	10	9.005	1.9873	$r = -0.9989$
	20	8.723	1.9735	$K = 0.0032772$
	30	8.394	1.9568	
	40	8.152	1.9441	
80	0	9.272	2	$\lg C = 1.9997 - 0.00426t$
	5	8.766	1.9756	$r = -0.9978$
	10	8.460	1.9602	$K = 0.0098108$
	15	8.013	1.9366	
	20	7.589	1.9130	
90	0	9.272	2	$\lg C = 2.00212 - 0.01461t$
	3	8.468	1.9606	$r = -0.9997$
	6	7.633	1.9155	$K = 0.03365$
	9	6.875	1.8701	
	12	6.212	1.8261	

3.2 实验结果 由各温度条件下线性回归相关系数 r 可知, $\lg C-t$ 的线性关系显著, 痛风颗粒中二苯乙烯苷、丹皮酚分解变化符合化学动力学一级反应。从各直线的斜率 b 求得相应反应速度常数 K 值(k

$= 2.303 \times b$)。二苯乙烯苷及丹皮酚的温度与反应速度常数对数对照表分别见表 3、4。

表 2 各试验温度条件下丹皮酚含量测定结果

温度 (°C)	取样时间 (h)	含量 C (mg/g)	lg C	回归方程
60	0	3.412	2	$\lg C = 1.9992 - 0.000330t$
	20	3.345	1.991	$r = -0.9962$
	40	3.285	1.984	$K = 0.00076$
	60	3.222	1.975	
	80	3.180	1.970	
70	0	3.412	2	$\lg C = 2.0002 - 0.001130t$
	10	3.327	1.989	$r = -0.9983$
	20	3.234	1.977	$K = 0.002602$
	30	3.168	1.968	
	40	3.069	1.954	
80	0	3.412	2	$\lg C = 2.00056 - 0.003398t$
	5	3.273	1.982	$r = -0.9970$
	10	3.184	1.970	$K = 0.007826$
	15	3.038	1.950	
	20	2.911	1.931	
90	0	3.412	2	$\lg C = 1.99844 - 0.008880t$
	3	3.174	1.968	$r = -0.9976$
	6	3.029	1.948	$K = 0.02045$
	9	2.808	1.916	
	12	2.669	1.893	

表 3 二苯乙烯苷温度与反应速度常数对数对照表

°C	T	1/T	K (h ⁻¹)	logK
60 $^{\circ}$ C	333	3.0030×10^{-3}	0.0008061	- 3.0936
70 $^{\circ}$ C	343	2.9154×10^{-3}	0.003277	- 2.4845
80 $^{\circ}$ C	353	2.8329×10^{-3}	0.009811	- 2.0083
90 $^{\circ}$ C	363	2.7545×10^{-3}	0.03365	- 1.4730

表 4 丹皮酚温度与反应速度常数对数对照表

°C	T	1/T	K (h ⁻¹)	logK
60 $^{\circ}$ C	333	3.0030×10^{-3}	0.00076	- 3.0092
70 $^{\circ}$ C	343	2.9154×10^{-3}	0.002602	- 2.5847
80 $^{\circ}$ C	353	2.8329×10^{-3}	0.007826	- 2.1065
90 $^{\circ}$ C	363	2.7545×10^{-3}	0.020451	- 1.6893

以 $\lg K$ 对 $1/T$ 线性回归, 得出回归方程分别为: 二苯乙烯苷: $\lg K = 13.06112 - 5356.79/T$, $r = 0.9994$, 则室温(25 $^{\circ}$ C)时的反应速度常数 $K_{25^{\circ}\text{C}} = 1.217 \times 10^{-5} (\text{h}^{-1})$, 有效期 $t_{0.9} = 0.1054/K_{25^{\circ}\text{C}} = 0.1054/1.217 \times 10^{-5} = 360$ (日)。

丹皮酚: $IgK = 14.201 - 5762.63/T$, $r = 0.9995$, 则室温(25℃)时的反应速度常数 $K_{25℃} = 7.3 \times 10^{-6}$ (h^{-1}), 有效期 $t_{0.9} = 0.1054/K_{25℃} = 0.1054/7.3 \times 10^{-6} = 1.65$ (年)。

4 讨论

二苯乙烯苷是制何首乌中有效成分之一, 实验表明其对热不稳定, 尤其在水溶液中^[6]。本实验是在干燥条件下进行的, 仅考虑温度的影响, 如果考虑水分的影响, 本试验测定的二苯乙烯苷有效期360日可能会缩短。有报道以二苯乙烯苷为指标, 在相对湿度86%的条件下恒温加速测定抗衰灵的有效期仅为27天^[7]。提示应注意密封、干燥保存含有二苯乙烯苷类成分的中成药。

丹皮酚采用水蒸汽蒸馏蒸出, 经β-环糊精包合后, 可以提高其稳定性^[8]。本试验结果表明, 以丹皮酚为指标, 痛风颗粒于室温的有效期为1.65年。

中药复方制剂成分复杂, 因此以不同成分为指

标测得其有效期有一定差异, 应全面综合考虑。

参考文献:

- [1] 梅美珍, 庄庆祺, 刘桂贞, 等. 降胆固醇药物快速筛选法的研究[J]. 药学学报, 1979, 14(1): 8.
- [2] 苏纬, 郭群. 何首乌的现代药理研究概况[J]. 中草药, 1997, 28(2): 119.
- [3] 国家医药管理局中草药情报中心站编. 植物药有效成分手册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986. 799.
- [4] 奚念朱. 药剂学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1996. 141.
- [5] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 139.
- [6] 刘振丽, 宋志前. 不同地区制何首乌中二苯乙烯苷含量测定及稳定性考察[J]. 中成药, 2002, 24(9): 684-685.
- [7] 徐凯建, 徐彦贵. 复方中药抗衰灵的固体稳定性[J]. 中草药, 1989, 20(5): 9.
- [8] 王铮, 任天池. 丹皮酚-β-环糊精包合物的研究[J]. 中国药学杂志, 1989, 24(7): 410.