

肾石通颗粒质量标准的研究

李虹(辽宁省食品药品检验所, 沈阳 110023)

摘要 目的: 研究肾石通颗粒的质量标准。方法: 增加 TLC法鉴别木香、牛膝、丹参、延胡索及 RP-HPLC法测定丹酚酸 B的含量。含量采用 Waters C_{18} 色谱柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μ m); 流动相为甲醇-乙腈-甲酸-水(30:10:1:59), 流速 1 mL · min⁻¹, 检测波长 286 nm。结果: 鉴别: 阴性对照均无干扰; 含量: 0.053 165~1.063 3 μ g范围内有良好的线性关系($r=0.9999$), 平均加样回收率为 100.5% ($n=6$)。结论: 所建方法简单、可靠, 可用于肾石通颗粒的质量控制。

关键词: 木香; 牛膝; 丹参; 延胡索; 丹酚酸 B; 肾石通颗粒; 高效液相色谱法

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1009-3656(2010)-3-176-4

Study on Quality Standard for Shenshitong Granules

Li Hong(Liaoning Provincial Institute for Food and Drug Control, Shenyang 110023)

Abstract Objective To establish a method for the quality standard of Shenshitong Granules. **Methods** The TLC methods were established for Comm on Aucklandia Root, Twotoothed Achyranthes Root, Danshen Root, Yanhusuo, and a RP-HPLC method was established for the determination of Salvianolic acid B performed on Waters C_{18} analytical column (4.6 mm × 200 mm, 5 μ m) with methanol-acetonitrile-formic acid-water (30:10:1:59) as the mobile phase at the flow rate of 1.0 mL · min⁻¹. The detection wavelength was 286 nm. **Results** Identification: negative control average no interference; content: The linear range was 0.053 165~1.063 3 μ g ($r=0.9999$) and average recovery ($n=6$) was 100.5%. **Conclusion** The method is convenient, reliable and suitable for quality assessment of Shenshitong Granules.

Key Words Comm on Aucklandia Root, Twotoothed Achyranthes Root, Danshen Root, Yanhusuo; Salvianolic acid B, Shenshitong Granules, HPLC

“肾石通颗粒”收载于《卫生部药品标准》中成药方制剂第二册。原标准无鉴别、无含量测定, 质量可控性差。按国家药典委员会“国家药品标准提高行动计划”的技术要求及“国家药品标准提高行动计划”中成药品种增修订项目任务表中的修订建议, 在原标准的基础上, 增加了木香、牛膝、丹参、延胡索的薄层[鉴别]及丹参的[含量测定]^[1-6]的控制项目。经对样品进行检验, 该标准能有效地控制该制剂的质量。

1 仪器与试剂

LC-2010C 高效液相色谱仪(日本岛津公司); 甲醇、乙腈(色谱纯, 天津市康科德科技有限公司); 重蒸水; 其它试剂为分析纯; 去氢木香内酯; 齐墩果酸、原儿茶醛、延胡索乙素、丹酚酸 B对照品(均购自中国药品生物制品检定所, 批号分别为 111525-200001、709-8903、110810-200506、110726-200610、11562-200706); 肾石通颗粒(厂家 1 生产, 批号

060901, 厂家 2 生产, 批号 070501、20070301; 厂家 3 生产, 批号 20080306)

2 方法

2.1 薄层鉴别

2.1.1 木香的鉴别 取本品及按处方制法制得缺木香的阴性对照各 15 g 加水 50 mL, 超声处理 5 min, 滤过, 滤液用乙醚振摇提取 2 次, 每次 30 mL, 合并乙醚液, 蒸干, 加三氯甲烷 2 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取去氢木香内酯对照品, 加三氯甲烷制成每 mL 含 0.5 mg 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 VI B)试验, 吸取上述两种溶液各 20 μ L, 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-环己烷(5:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 1% 香草醛硫酸溶液, 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 检出木香, 阴性无干扰。

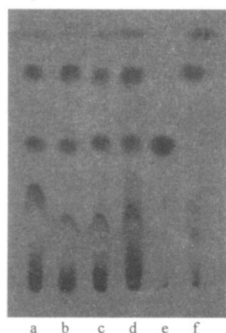


图 1 木香薄层色谱图

a b c d 供试品溶液; e 去氢木香羟内酯对照品溶液; f 空白对照溶液

2.1.2 牛膝的鉴别 取本品及按处方制法制得缺牛膝的阴性对照各 20 g 加稀乙醇 50 mL、盐酸 5 mL, 加热回流 1 h, 冷却, 离心, 取上清液, 用乙醚提取 2 次, 每次 30 mL, 合并乙醚液, 挥干, 残渣加乙醚 30 mL 使溶解, 滤过, 挥干, 残渣加甲醇 2 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取齐墩果酸对照品, 加甲醇制成每 mL 含 0.5 mg 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法 (《中国药典》2005 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取上述两种溶液各 5~15 μ L 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-甲醇 (40:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以磷钼酸试液, 在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 检出牛膝, 阴性无干扰。

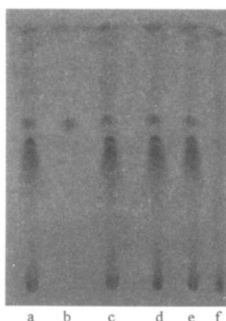


图 2 牛膝薄层色谱图

a c d e 供试品溶液; b 齐墩果酸对照品溶液; f 空白对照溶液

2.1.3 丹参的鉴别 取本品及按处方制法制得缺丹参的阴性对照各 20 g 加乙醇 80 mL, 加热回流 1 h, 滤过, 溶液蒸至近干, 残渣加水 30 mL 使溶解, 用乙醚提取 2 次, 每次 20 mL, 合并乙醚液, 蒸干, 残渣加甲醇 2 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取原儿茶醛对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法 (《中国药典》2005 年

版一部附录 VI B) 试验, 吸取上述两种溶液各 15 μ L, 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲酸 (10:4:1.6) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 三氯化铁乙醇溶液, 在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰。试品色谱中, 检出丹参, 阴性无干扰。

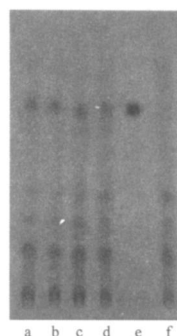


图 3 丹参薄层色谱图

a b c d 供试品溶液; e 原儿茶醛对照品溶液; f 空白对照溶液

2.1.4 延胡索的鉴别 取本品及按处方制法制得缺延胡索的阴性对照 20 g 加水 50 mL, 加浓氨试液调节 pH 值至 9~10, 超声处理 30 min, 用乙醚提取 2 次, 每次 30 mL, 合并乙醚液, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取延胡索乙素对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法 (《中国药典》2005 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取上述两种溶液各 5 μ L, 分别点于同一用 1% 氢氧化钠溶液制备的硅胶 G 薄层板上, 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, 置紫外光灯 (365 nm) 下检视。供试品色谱中, 检出延胡索, 阴性无干扰。

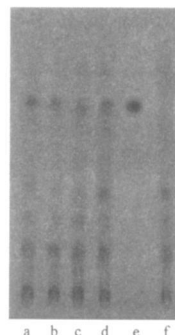


图 4 延胡索薄层色谱图

a b c e 供试品溶液; d 延胡索乙素对照品溶液; f 空白对照溶液

2.2 含量测定

2.2.1 对照品溶液 精密称取丹酚酸 B 对照品适量,加 75% 甲醇制成每 1 mL 含 55 μg 的溶液,即得。

2.2.2 供试品溶液 取装量差异项下的本品,研细,取约 4 g 精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 75% 甲醇 50 mL,密塞,称定重量,加热回流 1 h 取出,放冷,再称定重量,用 75% 甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性样品溶液 按处方比例称取除去丹参的其它药材适量,依照肾石通颗粒的制备工艺制得阴性样品,照“2.2.2”项下方法制备阴性样品溶液。

2.2.4 色谱条件及系统适用性试验 色谱柱: waters C_{18} 柱 (4.6 mm $\times$ 200 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-乙腈-甲酸-水 (30:10:1:59), 流速 1 mL $\cdot$ min⁻¹; 检测波长: 286 nm; 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$ 。理论板数按丹酚酸 B 峰计算应不低于 2 500。

精密吸取供试品溶液、对照品溶液、阴性样品溶液各 10 μL , 在此色谱条件下, 丹酚酸 B 可与其它成分基线分离, 阴性组分无干扰, 结果见图 5。

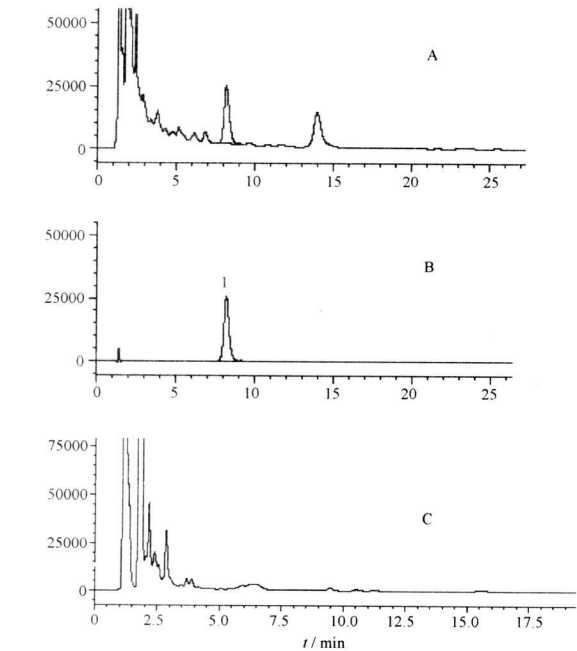


图 5 肾石通颗粒 HPLC 色谱图
A. 样品; B. 对照品; C. 阴性样品; 1. 丹酚酸 B

表 1 回收率试验有关数据 (n= 6)

样品称样量 /g	样品中丹酚酸 B 的含量 /mg	加入对照品量 /mg	测出总量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
2 060 8	1. 247 6		2 326 5	101. 5		
2 061 3	1. 247 9		2 328 7	101. 6		
2 047 2	1. 239 4	1 063 3	2 304 7	100. 2	100. 5	1. 3
2 040 3	1. 235 2		2 318 1	101. 8		
2 045 7	1. 238 5		2 288 4	98. 7		
2 033 0	1. 230 8		2 287 1	99. 3		

2.2.5 线性关系考察 分别精密吸取丹酚酸 B 对照品溶液 (浓度为 0. 053 165 mg $\cdot$ mL⁻¹) 1, 5, 10, 15, 20 μL , 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 以对照品的进样量为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 计算, 得回归方程为: $Y=1\,122\,471X-668\,992$, $r=0.999\,9$ 。试验结果表明: 丹酚酸 B 进样量在 0. 053 165~ 1. 063 3 μg 范围内, 线性关系良好。

2.2.6 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液, 连续进样 6 次, 测得丹酚酸 B 峰面积的平均值为 563786, RSD 值为 0. 23%, 结果表明: 精密度良好。

2.2.7 稳定性试验考察 精密吸取同一供试品溶液 10 μL , 分别于配制后 0, 2, 4, 8, 12 h 进样测定, 测得丹酚酸 B 峰面积的平均值为 562602, RSD 值为 0. 45%, 结果表明: 供试品溶液在 12 h 内稳定。

2.2.8 重复性试验 精密称取同一批号 (060901) 的样品 6 份, 各 4 g 按“2.2.2”项下的方法制成供试品溶液, 在上述色谱条件下测定, 丹酚酸 B 含量的平均值为每袋 9. 093 9 mg, RSD 为 1. 5%。结果表明: 重复性良好。

2.2.9 加样回收率试验 采用加样回收方法, 精密称取已知含量的同一批号 (060901, 平均装量为每袋 15. 021 3 mg 含丹酚酸 B 为 0. 605 4 mg $\cdot$ g⁻¹) 的样品约 2 g 分别精密加入丹酚酸 B 对照品溶液 ($C=0. 106\,33\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 10 mL, 按“2.2.2”项下的方法制备, 并按上述色谱条件测定丹酚酸 B 的含量, 计算回收率, 结果见表 1。

2.2.10 样品含量测定 取 4 个批号的样品, 按“2.2.2”项下的方法制成供试品溶液, 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL , 注入液相色谱仪, 按上述色谱条件下测定, 以外标法计算样品中丹酚酸 B 的含量, 结果见表 2。

3 讨论

3.1 提取条件的选择 根据丹酚酸 B 的性质, 分别比较了甲醇、50% 甲醇、75% 甲醇回流提取法和甲醇、50% 甲醇、75% 甲醇超声提取对丹酚酸 B 的提取率的影响, 结果表明 75% 甲醇回流提取对丹酚酸 B 的提取率最高, 故选用 75% 甲醇回流提取。

表 2 样品测定结果 (n= 4)

批号	含量 /mg/袋
060901	9.1
070501	8.9
20070301	8.4
20080306	8.7

3.2 本实验比较了回流 30、60、90 min 不同时间丹酚酸 B 的提取率,结果表明回流 60 min 已基本提取完全,因此确定提取时间为 60 min。

3.3 HPLC 测定条件的选择,对丹酚酸 B 75% 甲醇的溶液,进行紫外光谱扫描,在 286 nm 处有最大吸收,故选择 286 nm 作为检测波长,并对流动相进行了选择,最终选用甲醇-乙腈-甲酸-水 (30:10:1:59) 为流动相,与《中国药典》2005 年版丹参项下色谱条

件相同,可将丹酚酸 B 与其它峰很好地分离,便于操作。

参考文献

[1] 《中国药典》2005 年版:一部[S]. 2005: 52.
[2] 杜冠华,张均田.丹参现代研究概况与进展[J].医药导报, 2004, 23(6): 355.
[3] 李耿,辛文峰,杜金行,等. HPLC 法测定同时测定丹参注射液 中 6 个成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(12): 2025.
[4] 饶毅,魏惠珍,崔金国,等. HPLC 法同时测定心可舒制剂中 葛根素与丹酚酸 B 的含量[J]. 药物分析杂志, 2007, 27(9): 1431.
[5] 胡丹,包利苹,张兆静,等. HPLC 法测定宁坤养血丸中丹酚 酸 B 的含量[J]. 解放军药科学学报, 2008, 24(1): 82.
[6] 吴月国,张萍,马丽萍,等. HPLC 法测定丹酚胶囊中丹酚酸 B 的含量[J]. 中成药, 2008, 30(2): 291.

核桃仁的羰基值、酸值和过氧化值方法研究

林玉莲,倪萍,葛玉松,王梅娟(江苏省盐城药品检验所,盐城 224002)

摘要 目的:制定核桃仁羰基值、酸值和过氧化值的限度,以控制其酸败程度。方法:照 2005 年版《中国药典》一部附录 IX P 酸败度测定法中“羰基值、酸值和过氧化值的测定”进行^[1],并在使用正 醇替代苯测定羰基值方面作了对比研究。结果:建 议核桃仁的羰基值、酸值和过氧化值限度分别不得过 7.0、10.0 和 0.07。结论:实验结果准确、可靠,可用于核桃仁的质量控制。 正 醇替代苯测定羰基值,其测定结果与药典苯法非常接近,完全可以替代,且替代的方法操作简便、快捷,试剂用量少,减少 了对实验人员健康的侵害和环境的污染。

关键词:核桃仁;羰基值;酸值;过氧化值;正 醇替代苯

中图分类号: 921.2 文献标识码: A 文章编号: 1009- 3656(2010)- 3- 179- 3

Study on Carbonyl Value, Acid Value and Peroxide Value Methods of Walnut Kernel

Lin Yu-lian, Ni Ping, Ge Yu-song, Wang Mei-juan (Jiangsu Yancheng Institute for Drug Control, Yancheng 224002)

Abstract Objective To establish the limit of Walnut kernel's carbonyl value, acid value and peroxide value in order to control the degree of rancidity. **Method** According to "Rancidity Determination Act" in Chinese Pharmacopoeia Appendix 2005(I), to determine carbonyl value with N-butyl in place of Benzene and to do comparative study. **Result** The limits of Walnut Kernel's carbonyl value, acid value and peroxide value are suggested respectively no more than 7.0, 10.0 and 0.07. **Conclusion** The method is accurate, reliable and can be used for quality control of Walnut Kernel. The result of determination of N-butyl and determination of benzene with carbonyl value is very approach, so N-butyl can be used in place of benzene and the method is simple, rapid, reagents use less and reduce health damage and environmental pollution.

Key Words Walnut Kernel, carbonyl value, acid value, peroxide value, N-butyl in place of Benzene

核桃仁为胡桃科植物胡桃 (Juglans regia L.) 的干燥成熟种子,《中国药典》2005 年版仅有性状和水