

复方金钱草颗粒的质量控制研究

马军花¹, 邱宏聪^{2,3}, 陈明生^{2,3}, 温幼敏¹, 陈露^{2,3}, 刘布鸣^{2,3*}

1. 广西万通制药有限责任公司, 广西 南宁 530003

2. 广西中医药研究院, 广西 南宁 530022

3. 广西中药质量标准研究重点实验室, 广西 南宁 530022

摘要: **目的** 建立复方金钱草颗粒的质量控制方法, 为其质量控制提供依据。**方法** 采用薄层色谱法对复方金钱草颗粒处方中广金钱草、光石韦药材进行定性鉴别, 采用高效液相色谱法测定复方金钱草颗粒中芒果苷。**结果** 确定了处方中广金钱草、光石韦的薄层色谱鉴别方法, 在选定的薄层色谱条件下, 色谱斑点分离较好, 阴性无干扰。芒果苷进样量在 0.060 5~0.605 0 μg 与峰面积呈良好的线性关系 ($r=0.999\ 5$), 平均回收率为 99.52%, RSD 值为 2.13%。**结论** 所建立的方法简便、准确、专属性强、重复性好, 可有效地控制复方金钱草颗粒的质量。

关键词: 复方金钱草颗粒; 广金钱草; 光石韦; 芒果苷; 薄层色谱; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2014)04-0381-04

DOI:10.7501/j.issn.1674-5515.2014.04.013

Quality control of Compound Jinqiancao Granules

MA Jun-hua¹, QIU Hong-cong^{2,3}, CHEN Ming-sheng^{2,3}, WEN You-min¹, CHEN Lu^{2,3}, LIU Bu-ming^{2,3}

1. Guangxi Vantone Pharmaceutical Co., Ltd., Nanning 530003, China

2. Guangxi Institute of Traditional Medical and Pharmaceutical Sciences, Nanning 530022, China

3. Guangxi Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality Standards, Nanning 530022, China

Abstract: Objective To establish a quality standard of Compound Jinqiancao Granules for scientific evaluation and effective control of its quality to provide a reliable basis. **Methods** The herbs in the formula, such as *Desmodii Styracifolii Herba* and *Pyrrosiae Folium* were identified by TLC. Contents of mangiferin were determined by HPLC method. **Results** The method was established to distinguish *Desmodii Styracifolii Herba* and *Pyrrosiae Folium*. The spots in the TLC chromatograms were clear, and there were no interference from negative control. Mangiferin had a good linearity in the range of 0.060 5 — 0.605 0 μg ($r=0.999\ 5$). The average recovery was 99.52%, and RSD value was 2.13%. **Conclusion** The method is simple and accurate, and has a good reproducibility, which can be used for the quality control of Compound Jinqiancao Granules.

Key words: Compound Jinqiancao Granules; *Desmodii Styracifolii Herba*; *Pyrrosiae Folium*; mangiferin; TLC; HPLC

复方金钱草颗粒由广金钱草、车前草、光石韦、玉米须 4 味中药经提取加工制成, 具有清热利湿、通淋排石功效, 用于湿热下注所致的热淋、石淋, 症见尿频、尿急、尿痛、腰痛等, 以及泌尿结石、尿路感染见上述证候者。芒果苷为光石韦的主要活性成分之一^[1-2], 具有抗氧化、抗病毒^[3]、抗炎^[4]、抗肿瘤^[5]、调节血糖^[6]等多方面的生理活性和药理作用, 并常用作测定指标^[7-8], 故本实验采用薄层色

谱法对复方金钱草颗粒处方中广金钱草、光石韦进行定性鉴别, 并以芒果苷作为定量指标, 建立复方金钱草颗粒的质量控制方法, 为其规范化生产、质量评价提供依据。

1 仪器与材料

瑞士梅特勒 XS-205 电子天平, 江苏昆山 KQ5200B 型超声波清洗器 (320 W, 40 kHz), 威玛龙公司 UC3220 型高效液相色谱仪, 威马龙系列色

收稿日期: 2014-02-08

基金项目: 广西科技攻关项目 (桂科攻 1099062-4; 桂科转 13109005; 桂科转 13129006)

作者简介: 马军花 (1963—), 女, 高级工程师, 从事中药生产工艺与标准研究工作。Tel: (0771)3172253 E-mail: majunhua63@163.com

*通信作者 刘布鸣 (1956—), 男, 研究员。Tel: (0771)5883405 E-mail: liubuming@aliyun.com

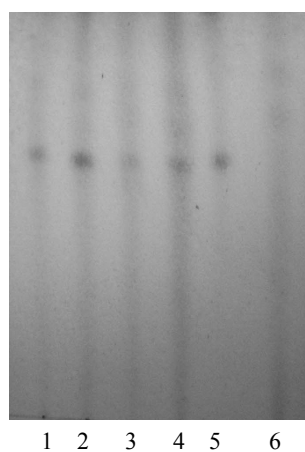
谱工作站。

广金钱草对照药材(批号 121248-201104, 供鉴别用)、芒果苷对照品(批号 111607-200402, 供含量测定用)均由中国食品药品检定研究院提供。乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。复方金钱草颗粒(10 g/袋, 批号 090825、100415、100519、100623)由广西万通制药有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 广金钱草的薄层色谱鉴别

取复方金钱草颗粒 20 g, 研细, 加甲醇 40 mL, 加热回流 1 h, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇适量使溶解, 加经过处理并晾干的聚酰胺适量吸附, 置聚酰胺柱(30~60 目, 内径 1 cm, 高约 20 cm, 湿法装柱)上, 以 600 mL 水洗脱至洗脱液无色, 弃去水液, 再用 50%乙醇 60 mL 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取广金钱草对照药材 4.4 g, 同法制成对照药材溶液。将处方中去除广金钱草, 同法制备阴性对照溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B)试验, 吸取上述两种溶液各 5~10 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以醋酸乙酯-甲酸-水(8:2:3:0.4)的上层溶液为展开剂, 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。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, 阴性无干扰, 见图 1。



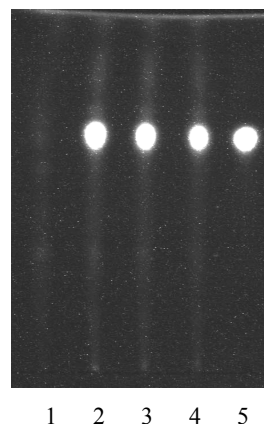
1~4-样品 5-对照品药材 6-阴性对照
1—4-samples 5-reference material medica 6-negative sample

图 1 复方金钱草颗粒中广金钱草的薄层色谱图

Fig. 1 TLC chromatogram of *Desmodii Styracifolii Herba* in Compound Jinqiancao Granules

2.2 光石韦的薄层色谱鉴别

取复方金钱草颗粒 20 g, 研细, 加甲醇 20 mL, 超声处理 10 min, 取出, 滤过, 取滤液作为供试品溶液。另取芒果苷对照品适量, 加甲醇制成 0.1 mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。将处方中去除光石韦, 同法制备阴性对照溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B)试验, 吸取上述两种溶液各 1~2 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以醋酸乙酯-甲酸-甲酸-水(10:1:1:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 1%三氯化铝乙醇溶液, 晾干, 在 105 $^{\circ}$ C 加热约 5 min, 置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点, 阴性无干扰, 见图 2。



1-阴性对照 2~4-样品 5-芒果苷
1-negative sample 2—4-samples 5-mangiferin

图 2 复方金钱草颗粒中光石韦的薄层色谱图

Fig. 2 TLC chromatogram of *Pyrrosiae Folium* in Compound Jinqiancao Granules

2.3 芒果苷的 HPLC 法测定

2.3.1 色谱条件 采用依利特 SinoChrom ODS-BP 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m), 流动相为乙腈-0.2%磷酸(13:87), 检测波长为 318 nm, 柱温为室温, 进样量为 10 μ L。样品中芒果苷与其他成分分离度大于 1.5, 阴性样品无干扰。见图 1。

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称取芒果苷对照品适量, 加 50%乙醇制成 20 μ g/mL 的溶液, 即得。

2.3.3 供试品溶液的制备 取装量差异项下本品, 混匀, 研细, 取 2 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 精密加入 50%乙醇 40 mL, 超声处理(功率 320 W, 频率 40 kHz) 5 min 使溶解, 加 50%乙醇至刻度,

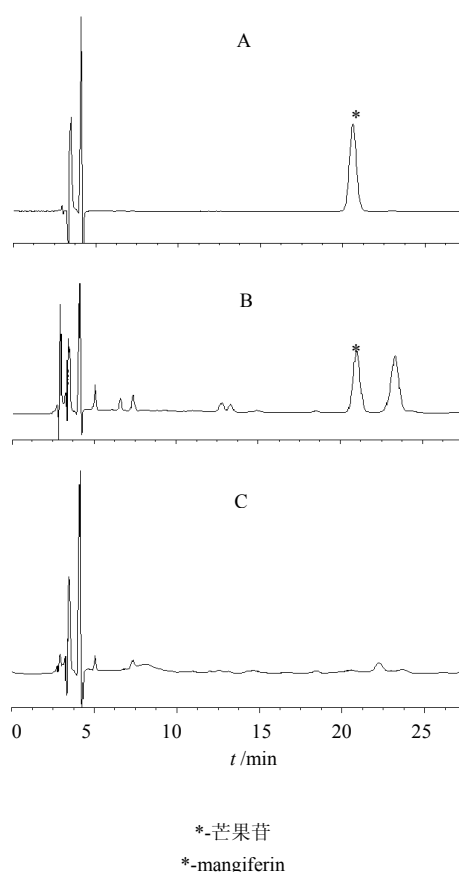


图 3 芒果苷对照品 (A)、复方金钱草颗粒 (B) 和阴性对照 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 3 HPLC chromatograms of mangiferin reference substance (A), Compound Jinqiancao Granules (B), and negative sample (C)

摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.3.4 线性关系考察 取芒果苷对照品, 精密称定 10.09 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 0.6、1.2、1.8、2.4、3.0、3.6、6 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 用 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀。分别精密吸取溶液 10 μ L, 按上述色谱条件注入色谱仪, 测定峰面积值。以峰面积值为纵坐标, 进样质量为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程 $Y=2\ 2640 X-26\ 461$ ($r=0.999\ 5$), 结果表明芒果苷进样量在 0.060 5~0.605 0 μ g 与峰面积呈良好的线性关系。

2.3.5 精密度试验 取同一供试品溶液 (批号 090825) 连续进样 6 次, 测定芒果苷峰面积, 结果 RSD 值为 0.90%。

2.3.6 稳定性试验 取同一供试品溶液 (批号 090825), 分别在 0、2、4、6、8、10 h 测定芒果苷

峰面积, 结果其 RSD 值为 1.37%, 表明供试品溶液在 10 h 内测定保持稳定。

2.3.7 重复性试验 取同一批样品 (批号 090825), 制备 6 份供试品溶液, 分别测定芒果苷峰面积, 计算芒果苷的质量分数, 结果其 RSD 值为 1.96%。

2.3.8 回收率试验 取批号 090825 样品 6 份, 每份约 1 g, 精密称定, 分别精密加入 100.9 μ g/mL 芒果苷对照品溶液 3.2、4、4.8 mL, 制备供试品溶液, 进样测定, 计算得平均回收率为 99.52%, RSD 值为 2.13% ($n=9$)。

2.3.9 样品测定 取 3 批复方金钱草颗粒样品, 制备供试品溶液, 按上述方法条件, 进行了测定, 用外标法计算样品中芒果苷的质量分数, 结果见表 1。

表 1 复方金钱草颗粒中芒果苷的测定结果 ($n=2$)
Table 1 Determination of mangiferin in Compound Jinqiancao Granules samples ($n=2$)

批 号	芒果苷/(mg·g ⁻¹)
100415	0.356
100519	0.626
100623	0.334

3 讨论

考察了不同流动相系统的洗脱效果, 发现使用甲醇-0.4%磷酸溶液 (33:67), 峰形肥胖, 理论塔板数低; 使用乙腈-水 (13:87), 峰形拖尾严重; 使用乙腈-0.2%磷酸溶液 (13:87), 峰形尖锐、对称, 分离度高, 分离效果好。故选择乙腈-0.2%磷酸 (13:87) 作为流动相。

考察了 3 根不同色谱柱: 大连依利特 SinoChrom ODS-BP 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m)、Dikma Technologies Diamonsil C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m)、Welch Materials Ultimate C₁₈ 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m) 对供试品溶液的分离效果, 结果表明供试品中芒果苷色谱峰与其他杂质峰均达到基线分离, 分离度大于 1.5。其中大连依利特 SinoChrom ODS-BP 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m) 峰形尖锐, 柱效最高, 故选用该色谱柱作为定量分析用色谱柱。

考察不同溶剂 30% 甲醇、50% 甲醇、80% 甲醇、甲醇、50% 乙醇进行提取, 结果表明用 50% 乙醇溶液提取得到芒果苷的量高, 故选择 50% 乙醇溶液为提取溶剂。还考察分别超声 5、10、30、60、90 min 超声处理, 结果表明: 超声 5 min 已将芒果苷提取

完全, 故选择超声 5 min 即可。

本实验以复方金钱草颗粒中的一味主药光石韦中的活性成分芒果苷为研究指标, 用薄层色谱法鉴定出制剂中含有芒果苷成分, 用高效液相色谱法测定制剂中芒果苷, 从而建立制剂的质量控制方法, 为其规范化生产提供理论依据。

参考文献

- [1] 郑 兴, 余 麟, 廖端芳, 等. 光石韦化学成分的研究 [J]. 中草药, 1999, 30(4): 253-254.
- [2] 黄 艳, 温幼敏, 马军花, 等. 光石韦药材 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(11): 152-155.
- [3] 黄 潇, 彭志刚. 芒果苷药理作用研究概况 [J]. 中国药师, 2007, 10(1): 73-74.
- [4] 卫智权, 阎 莉, 邓家刚, 等. 芒果苷对脂多糖诱导的慢性炎症大鼠 MAPK 通路及血清细胞因子的影响 [J]. 中草药, 2013, 44(1): 52-58.
- [5] 吕建珍, 于 洋, 邓 源, 等. 芒果苷对人肺腺癌 A549 细胞增殖的抑制作用及其机制研究 [J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2013, 50(3): 611-614.
- [6] 李学坚, 杜正彩, 邓家刚, 等. 芒果苷酰化衍生物降血糖活性的研究 [J]. 时珍国医国药, 2013, 24(1): 51-53.
- [7] 秦文杰, 易剑平, 周大成, 等. HPLC 法测定短柱肖菝葜中芒果苷 [J]. 现代药物与临床, 2009, 24(2): 108-109.
- [8] 逯雯洁, 王慧春, 刘亚蓉, 等. 藏药八味獐牙菜丸中芒果苷的含量测定 [J]. 中国医院药学杂志, 2013, 33(18): 1551-1552.