

味子糖浆由鸡西市人民医院制剂室提供,甲醇为色谱纯,其它试剂为分析纯

2 实验方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱 ODS柱 (5 μ m, 4 mm $\times$ 140 mm),流动相甲醇-水 (72: 28,实验选定),流速 1 mL/min,检测波长为 254 nm,进样量均为 20 μ L,分离度: 3.66,理论板数按五味子乙素峰计为 2469

2.2 对照品液制备:精密称取五味子乙素对照品,加甲醇配制成 0.1 mg/mL的对照品溶液

2.3 供试品液的制备:精密量取五味子糖浆 10 mL,减压回收至干,精密加入正己烷 20 mL,转移至具塞试管中,超声处理 15 min,过滤,精密量取续滤液 10 mL,减压回收至干。残渣加甲醇适量,超声处理使溶解,并转移至 10 mL容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀。

2.4 标准曲线的绘制:精密吸取对照品液 5, 10, 15, 20, 25 μ L,按上述色谱条件依次进行分析。测定。回归方程: $Y=3.36\times 10^3+3.73\times 10^2X$, $r=0.9999$,表明五味子乙素的进样量在 0.1~2.5 μ g间与峰面积呈良好的线性关系,直线基本通过原点,故采用外标一点法计算含量

2.5 样品测定:取对照品液、供试品液各 20 μ L,分

别注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定,以外标一点法计算即得,结果见表 1

表 1 五味子糖浆中五味子乙素含量测定结果 (n= 3)

批 号	五味子乙素含量 (mg/mL)	RSD (%)
000115	0.661 6	1.06
000229	0.710 1	0.98
000308	0.639 6	1.15

2.6 重现性实验:依样品测定步骤对同一批样品重复测定 5次, RSD为 1.12%。

2.7 精密度试验:精密吸取对照品溶液 20 μ L,连续进样 6次, RSD为 0.97%。

2.8 加样回收率实验:精密吸取已知含量的样品液 10 mL,加入五味子乙素对照品 2 mg,按样品测定的方法进行分析,结果平均回收率为 99.38%, RSD为 0.92%。

2.9 稳定性试验:取供试液,不同时间按样品测定的方法进行分析,结果表明吸收面积在 12 h内基本无变化

3 讨论

3.1 提取方法的选择:经多次试验摸索以正己烷对样品的干浸膏进行超声处理后,以甲醇溶解、定容,取得了较好的效果。超声处理 15 min后,即可将样品中的五味子乙素提取较完全。

肤康粉中胆酸的质量控制

房志仲¹,张丽艳²,焦文革³,杨金荣¹,王津燕^{1*},董伟林¹

(1. 天津医科大学药学院,天津 300203; 2. 山西省人民医院,山西 太原 030012; 3. 天津药物研究院药业公司,天津 300193)

中图分类号: R927.2 文献标识码: B 文章编号: 0253- 2670(2001)02- 0130- 02

肤康粉是适用于褥疮、外伤及烫伤感染的预防和康复的散剂,其主要成分为胆汁、白矾、三七、金银花、大黄粉、冰片等。其中胆酸 (CA)具有解热、抗炎、抗过敏和抗病毒等作用,其含量测定对于研究药物的药理作用、临床疗效、合理用药和控制制剂质量等具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 仪器、药品:日本岛津 LC-6A高效液相色谱

仪, LC-6A恒流泵, SPD-6可调波长紫外检测器, CTO-6A恒流控温箱, SCL-6B系统控制器, VST色谱工作站。

样品:肤康粉 (天津德森保健实业有限公司);对照品:胆酸 (中国药品生物制品检定所提供);试剂:甲醇为色谱纯,乙酸乙酯、盐酸、磷酸为 AR级。

1.2 胆酸的定性鉴别

1.2.1 供试品的处理:取肤康粉 2 g,加 95%乙醇

* 收稿日期: 2000-06-08
作者简介:房志仲, (1959-),男,本科,学士学位,副教授。
* 本校 2000届毕业生

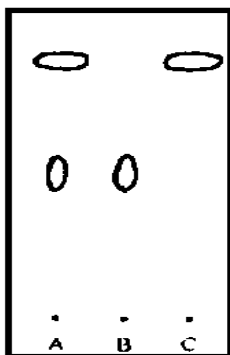
20 mL,回流 10 min,过滤备用。

1.2.2 对照液的配制:取胆汁酸适量配制成 1 mg/mL 的乙醇液。

1.2.3 阴性对照液的处理:处方中去除胆汁,依法配制阴性对照,处理方法同 1.2.1

1.2.4 展开系统:硅胶 GF₂₅₄-CMC-Na 板;展开剂:氯仿-乙醚-甲酸(4:4:2)。

1.2.5 检识:薄层展开后取出,晾干,喷以 10% 的硫酸乙醇溶液,于 105℃ 烘 10 min,在对照品相同位置上有相同的斑点(图 1)



A 供试品 B 胆酸对照品
C 阴性对照品
图 1 肤康粉中胆酸薄层色谱图

1.3 HPLC法

1.3.1 色谱条件:流动相:甲醇-磷酸缓冲液(75:25,水相用磷酸调节 pH=3);色谱柱:ODS-C₈ 300 mm×3.9 mm;流速:1 mL/min;紫外检测波长:λ=210 nm;灵敏度:0.05 AUFS 柱温:45℃。

1.3.2 对照品配制:精密称取胆酸对照品 250 mg,用甲醇溶解,并定容至 50 mL

1.3.3 供试液配制:精密称取肤康粉 1 g,先用盐酸酸化,再用乙酸乙酯超声振荡提取 3 次,滤去不溶物,挥发至干,用甲醇定容至 25 mL。

1.3.4 标准曲线绘制:精确吸取对照品 1, 2, 3, 4, 5, 6 mL,并用甲醇定容至 10 mL,配成 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 mg/mL 的系列标准液,经 HPLC 进行分析。每种标准液进样 20 μL,共进样 3 次。以胆酸的对照品峰面积积分为纵坐标,对照品的浓度为横坐标绘制标准曲线。浓度与峰面积的关系如表 1 所示

表 1 浓度与峰面积的关系

浓度 (mg/mL)	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0
峰面积	5 911	12 013	18 023	23 553	30 583	37 085

胆酸在 0.5~3.0 mg/mL 内线性关系良好。回归方程: $Y = -516.33 - 406.28X$, $r = 0.9994$

2 结果

2.1 样品测定:测定结果见表 2

2.2 阴性对照实验:将肤康粉处方中除胆汁酸,然后用盐酸酸化,用乙酸乙酯超声振荡提取 3 次,滤去不溶物,挥发至干,用甲醇定容至 25 mL 测定结果

表 2 肤康粉中胆酸的含量测定

编号	浓度(mg/mL)	含量(%)	RSD(%)
1	1.971	4.93	5.01
2	2.026	5.06	
3	1.854	4.64	
4	2.296	5.74	
5	2.038	5.10	

显示无胆酸存在。

2.3 精密度试验:精密吸取同一供试品溶液 20 μL,重复进样,测得峰面积积分值的 $RSD = 1.32\%$ ($n = 6$)

2.4 重现性试验:取同一批样品 6 份,照样品液的制备方法分别提取测定,测得峰面积积分值的 $RSD = 1.68\%$ ($n = 6$)

2.5 回收率试验:精确称取肤康粉 1 g,加入胆酸 25.0 mg,然后用盐酸酸化,用乙酸乙酯超声振荡 3 次,滤去不溶物,挥发至干,用甲醇定容至 25 mL,供测定胆酸之用。结果回收率为 98.42%, $RSD = 1.81\%$ ($n = 4$)。

3 讨论

3.1 制备供试液时,首先直接用乙酸乙酯提取,发现提取效果很差,采用先加盐酸酸化,再用乙酸乙酯提取后,效果很好。说明该散剂中胆酸已成盐,必须先用盐酸使其酸化。胆酸是一类易溶于水的甾体化合物,故经甲醇溶解,超声提取后效果很好。

3.2 HPLC 法测定样品时,开始以甲醇-水(70:30,水相用磷酸调节 pH=3)为流动相,发现保留时间(t_R)过长,有效成分分离效果不佳。后改用甲醇-磷酸缓冲液(75:25,并用磷酸调 pH=3)为流动相, t_R 缩短,峰型较好。

3.3 质量控制的方法应简单易行。开始采用紫外分光光度法进行含量测定,由于溶剂峰的干扰不能准确测定出胆酸的含量。参考文献^[2~5]后,发现用 HPLC 法测定大都先化学衍生,方法较复杂,故不采用化学衍生,直接在 210 nm 测定效果也很好。

参考文献:

- [1] 康廷国. 中成药薄层色谱鉴别 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1995.
- [2] 倪坤仪, 屠树滋. 蛇胆川贝液中胆酸的 HPLC 测定 [J]. 药物分析杂志, 1993, 13(1): 3-5.
- [3] 倪坤仪. 反相高效液相色谱法测定牛黄类中成药中胆汁酸的含量 [J]. 药学报, 1994, 29(8): 629-633.
- [4] 王 建, 倪坤仪, 于如赓. 人工牛黄中胆汁酸的化学衍生化 HPLC 分析 [J]. 中国药科大学学报, 1991, 22(5): 315-317.
- [5] 范广平, 朱静建, 王智华. 25 个牛黄样品胆汁酸的多组分含量研究 [J]. 中成药, 1996, 18(5): 39-41.