

基线分离,而且峰型对称、尖锐,故定芦丁为内标,进样浓度为 2.50 mg/mL。

3.2 检测波长的选择:从灯盏花乙素对照品的紫外吸收光谱可见,在 280 nm 处有最大吸收,内标物芦丁在此波长也有很大的吸收,最后定检测波长为 280 nm。

3.3 缓冲液 pH 值的影响:灯盏花乙素为黄酮类化合物,带有多酚羟基,具有弱酸性,毛细管电泳的缓冲液条件摸索主要在 pH 值 7~9 弱碱性范围进行。实验分析,在 pH 值 8.5~9.0 时,灯盏花乙素峰可以得到很好的分离,但在 pH 值 8.5 时,灯盏花乙素峰高较 pH 值 9.0 大很多,故选择缓冲液的 pH 值为 8.5。摸索了分别用磷酸、硼酸和盐酸调节 pH 值,实验中发现,用磷酸和硼酸虽均可使样品得到分离,但由于硼酸酸性较弱,需加入的量较大,出峰也稍延长,最终选择了磷酸作为 pH 值调节剂。

3.4 缓冲液盐的种类和浓度的影响:摸索了磷酸盐、柠檬酸盐和硼酸盐,试验中发现用磷酸盐、柠檬

酸盐为缓冲液时,样品的所有峰均出现明显的拖尾现象,而采用硼酸盐时,峰型对称、尖锐,符合药典对药物分析的要求。摸索了缓冲液的浓度 20~80 mmol/L,当浓度较低时,分离时间延长,峰形变宽;当浓度较高时,分离时间虽短,但不能基线分离,最后选择了 40 mmol/L 硼酸盐的浓度。

3.5 分离电压的选择:试验中摸索了电泳电压对分离的影响。当电压太低时,分离时间过长,当电压太高时,分离基线不稳,经试验确定,当电压为 20 kV 时,基线平稳,10 min 内样品分离完全。

参考文献:

- [1] 张卫东,陈万生,王永红,等.灯盏花黄酮苷化学成分的研究[J].中草药,2000,21(8):565-566.
- [2] 张卫东,陈万生,王永红,等.灯盏细辛化学成分的研究[J].中国药学杂志,2001,36(4):233-235.
- [3] 阎连秋,袁静,赫春,等.灯盏花素治疗急性脑梗死的临床研究[J].辽宁中医杂志,2001,28(2):84-85.
- [4] 丁国华.灯盏花素药理研究和临床应用进展[J].时珍国医国药,1999,10(4):303-304.
- [5] 王锦平,王永铭.灯盏细辛药理作用的研究[J].中成药研究,1985,7(12):25-26.
- [6] 卫生部中药标准[S].WS₃-B-3822-98.

黄精赞育胶囊质量标准的研究

杨南松,孙照普,王玉庆*

(扬州龙凤药业有限公司,江苏 扬州 225009)

摘要:目的 建立黄精赞育胶囊的质量控制标准。方法 采用薄层色谱法对制剂中的何首乌、五味子、枸杞子、淫羊藿、当归、蛇床子进行定性鉴别,并采用 HPLC 法对制剂中的君药何首乌中大黄素进行含量测定。结果 大黄素的平均回收率为 96.84%, $RSD=1.04\%$ ($n=6$)。结论 该法灵敏、简便、准确和重现性好,可作为该制剂的质量控制标准。

关键词:黄精赞育胶囊;薄层色谱;大黄素;高效液相色谱法

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2002)09-0798-03

Studies on quality standard of HUANGJING ZANYU CAPSULE

YANG Nan-song, SUN Zhao-pu, WANG Yu-qing

(Yangzhou LONGFENG Pharmaceutical Co., Ltd., Yangzhou 225009, China)

Key words HUANGJING ZANYU CAPSULE; TLC; emodin; HPLC

* HUANGJING ZANYU CAPSULE consists of *Radix Polygoni Multiflori*, *Fructus Lycii*, *Fructus Schisandrae*, *Herba epimedii*, etc. It has the function of tonifying the kidney and replenishing essence.

黄精赞育胶囊是由何首乌、枸杞子、五味子、淫羊藿等药材组成,具有补肾填精,清热利湿的功效,用于肾虚精亏夹湿热型弱精子症、少精子症引起的男性不育。为控制药品质量,本研究对枸杞子、淫羊

藿等 6 味组分进行了薄层鉴别,采用 HPLC 法测定组方的君药何首乌总蒽醌中大黄素含量。该方法灵敏、简便、准确、重现性好,可作为产品的质量标准。

1 仪器与材料

* 收稿日期:2002-02-27

作者简介:杨南松(1962-),男,上海人,工程师,1984年毕业于南京中医药大学药学院,1984~1994年在扬州天康药业有限公司从事新药开发和技术质量管理,1995年至今在扬州龙凤药业有限公司从事中药质量标准的研究和中药新药的开发。Tel:0514-7893767

LC-10A 高效液相色谱仪(日本岛津公司), SPD-10A 紫外检测器(日本岛津公司), C-R6A 积分仪, UV-8 三用紫外点样分析仪(上海顾村)。甲醇为色谱纯,水为重蒸水,硅胶 G 硅胶 GF₂₅₄为青岛海洋化工集团产品,其他试剂均为分析纯。黄精赞育胶囊(批号为 981125 981130 981206 990108)由本公司提供。大黄素、五味子乙素、淫羊藿苷、蛇床子素对照品及枸杞子、当归对照药材均由中国药品生物制品检定所提供。

2 定性鉴别

2.1 何首乌、五味子的鉴别:取本品内容物 2 g,加甲醇 30 mL,加热回流 60 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 10 mL 使溶解,用氯仿提取 2 次,每次 10 mL,合并氯仿液,蒸干,残渣加氯仿 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。同法分别制备不含何首乌和五味子的阴性对照溶液。另取大黄素、五味子乙素对照品适量,加甲醇分别制成 0.5 mg/mL 的溶液,作为对照品溶液。吸取上述 5 种溶液各 10 μ L,分别点于同一硅胶 GF₂₅₄薄层板上,以石油醚(30 $^{\circ}$ C ~ 60 $^{\circ}$ C)-甲酸

乙酯-甲酸(15:5:1)的上层溶液作为展开剂,展开,取出,晾干。供试品色谱中,在与大黄素对照品色谱相应的位置上,显相同的黄色斑点(图 1-A);再置紫外光灯(254 nm)下检视,供试品色谱中,在与五味子乙素对照品色谱相应的位置上,显相同的蓝色斑点,阴性对照无干扰(图 1-B)。

2.2 枸杞子的鉴别^[1]:取本品内容物 2.5 g,加乙醇 20 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液浓缩近干,残渣加水 10 mL 使溶解,用醋酸乙酯提取 2 次,每次 15 mL,合并醋酸乙酯液,蒸干,残渣加乙醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。同法制备枸杞子阴性对照溶液。另取枸杞子对照药材 1 g,加水 40 mL 煎煮 60 min,滤过,滤液同法制成对照药材溶液。吸取上述 3 种溶液各 10 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-醋酸乙酯-冰醋酸(25:10:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同的淡蓝色荧光斑点,阴性对照无干扰(图 1-C)。

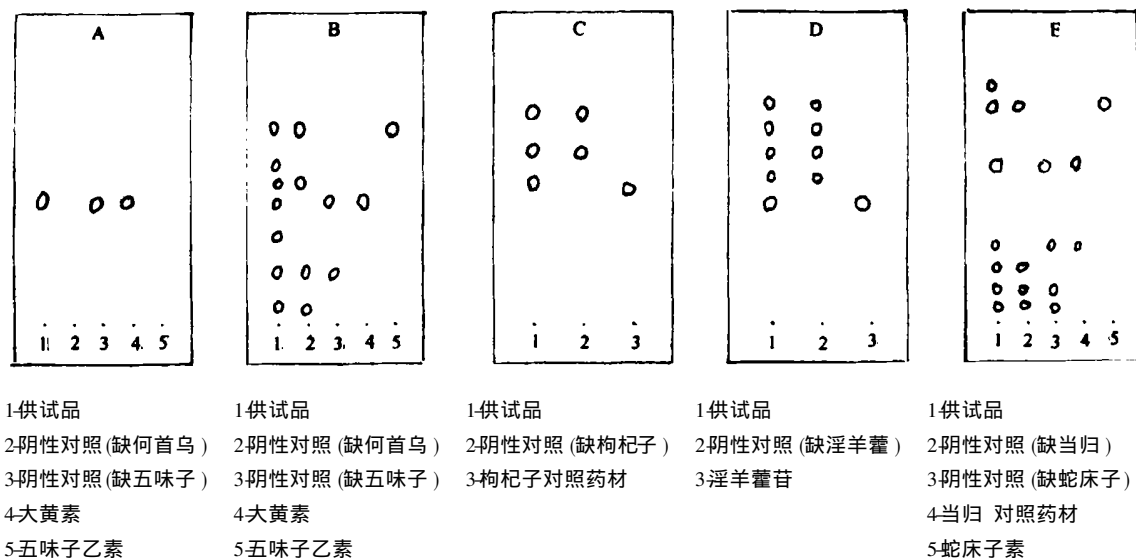


图 1 TLC图谱

2.3 淫羊藿的鉴别:取本品内容物 4 g,加 70% 乙醇 30 mL,置水浴上加热回流 60 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 15 mL 使溶解,用水饱和的正丁醇提取 2 次,每次 15 mL,合并正丁醇液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。同法制备淫羊藿阴性对照溶液。另取淫羊藿苷对照品,加甲醇制成 0.5 mg/mL 的溶液,作为对照品溶液。吸取上述 3 种溶液各 10 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以醋酸乙酯-丁酮-甲酸-水(10:1:1:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 2% 三氯化铝乙醇溶液,在

105 $^{\circ}$ C 烘数分钟,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,显相同黄色的荧光斑点,阴性对照无干扰(图 1-D)。

2.4 当归、蛇床子的鉴别:取本品内容物 1 g,加乙醇 20 mL,置水浴上加热回流 60 min,滤过,滤液浓缩至 1 mL,作为供试品溶液。同法分别制备当归和蛇床子阴性对照溶液。另取当归对照药材 0.5 g,同法制成对照药材溶液。再取蛇床子素对照品,加乙醇制成 0.5 mg/mL 的溶液,作为对照品溶液。吸取上述 5 种溶液各 5 μ L,分别点于同一硅胶 GF₂₅₄薄层

板上,以苯 醋酸乙酯 (9∶ 1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯 (254 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同的亮蓝色斑点;在与对照品色谱相应的位置上,显相同的一个蓝色斑点,阴性对照无干扰 (图 1-E)

3 含量测定

3.1 色谱条件与系统适用性实验: 色谱柱 Spherical C₈ (5 μ m, 4.6 mm× 250 mm),流动相: 甲醇-水-磷酸 (700∶ 300∶ 0.3),检测波长 437 nm,柱温: 室温,流速: 1.2 mL/min,理论板数按大黄素峰计算应不低于 2 000

3.2 供试品溶液的制备: 精密称取本品内容物 0.5 g,置 50 mL量瓶中,加入甲醇 45 mL,超声处理 30 min,放冷,用甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,弃去初滤液,精密量取续滤液 10 mL,蒸干,加 2.5 mol/L硫酸溶液 20 mL,置沸水浴中回流 60 min,稍冷,加氯仿 30 mL,继续回流 120 min,冷却,分取氯仿层,酸液再用氯仿提取 2次,每次 15 mL,合并氯仿液,蒸干,用甲醇溶解残渣,定容至 10 mL,过 0.45 μ m微孔滤膜,即得

3.3 线性关系考察: 精密称取大黄素对照品适量,用甲醇配成 0.084 mg/mL的溶液,取 0.1, 0.2, 0.8, 1.2, 2.4, 3.6 mL分别置于 10 mL量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,进样 10 μ L,检测。以峰面积 (Y)对进样量 (X)进行线性回归,得回归方程: $Y=4\,305\,550.42X-7\,386.46$, $r=0.999\,9$,结果表明大黄素在 0.008 4~ 0.302 4 μ g呈良好线性关系

3.4 精密度试验: 精密吸取对照品溶液 10 μ L,重复进样 5次,测定峰面积,其 $RSD=0.79\%$,表明仪器精密度良好。

3.5 稳定性试验: 精密吸取对照品溶液 10 μ L,在 0.5, 1, 2, 3 h测定峰面积,其 $RSD=0.6\%$,结果表明对照品溶液在 3 h内稳定性良好。

3.6 重现性试验: 取同一批号样品 6份,按供试品溶液制备项下方法制备,分别依法测定总蒽醌中大黄素含量,其 $RSD=2.6\%$,结果表明本法重现性良好。

3.7 回收率试验: 采用加样回收法,分别精密称取已知成分含量的样品内容物 6份,再分别加入一定量的大黄素对照品,依法测定回收率,平均回收率为 96.84%, $RSD=1.04\%$,结果表明本方法可行。

3.8 样品的含量测定: 取 4批样品依法制备供试液,分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 10 μ L,注入液相色谱仪,测定,计算。结果见表 1

表 1 黄精赞育胶囊中大黄素的含量测定结果 (n= 3)

批 号	含量 (mg/粒)	RSD (%)
981125	0.16	1.74
981130	0.15	0.93
981206	0.17	1.84
990108	0.14	2.19

含量限度暂定每粒不少于 0.14 mg

4 讨论

4.1 在薄层鉴别试验中,样品及阴性对照均采用平行试验,结果表明各检出成分不受本品内容物中其他成分的干扰,专属性较强

4.2 蒽醌类化合物呈弱酸性,用中性流动相分离时,有严重拖尾现象,致使分离不理想,而在酸性条件下色谱行为得到明显改善,故采用 0.1%磷酸代替水取得了较好的分离效果。在流动相筛选试验中,我们分别以甲醇-0.1%磷酸液 (75∶ 25, 70∶ 30, 65∶ 35)不同比例进行试验,制剂中大黄素的分离以甲醇-0.1%磷酸液 (70∶ 30)为流动相比较好,其他比例欠佳。蒽醌类化合物最大吸收波长为 254 nm,由于成品中其他成分的干扰,达不到基线分离,故选用 437 nm为测定波长,蒽醌吸收良好,且可排除共存药材及杂质的干扰,分离度好。

4.3 在含量测定制备供试品溶液时,为考察酸水解时间对大黄素含量测定的影响,曾用 2.5 mol/L硫酸溶液 20 mL回流 1, 1.5 h进行对比,两者测定结果大致相同,故选择酸水解时间为 1 h

参考文献:

[1] 龙天游,余之江.腰痛扶正胶囊中三味主药材的薄层色谱鉴别[J]. 中药材, 1996, 19(5): 257.
[2] 陈定一,王静竹,赵现红.高效液相色谱法测定大黄及其炮制品中总大黄素的含量[J]. 中国中药杂志, 1994, 19(9): 538-539.

热烈祝贺《中草药》杂志以“双奖期刊”进入中国期刊方阵!