

表1 不同产地与批次的独一味中类叶升麻苷的量

产地及批次(部位)	类叶升麻苷/%
甘肃 01	0.528
甘肃 02	0.379
甘肃 03	0.662
甘肃 04	0.579
西藏	0.514
甘肃 04(花)	0.297
甘肃 04(茎)	0.495
甘肃 04(叶)	0.613

实验结果表明,不同产地、不同批次的独一味药材品质存在差异,甘肃 03 批次药材的类叶升麻苷的量较高。比较药材不同部位中类叶升麻苷的量,结果显示叶中的量较高。

3 讨论

3.1 流动相的选择

参照《中国药典》标准,考察了甲醇-水、甲醇-1%醋酸水溶液、乙腈-1%醋酸水溶液系统,最终确定以乙腈-甲醇-1%醋酸水溶液(10:15:75)系统为流动相,分离效果最佳。

3.2 样品提取方法的选择

先后考察了冷浸、热回流、渗漉、超声等不同提取方法,同时又考察了溶剂比例、提取时间、溶剂体积等因素对提取的影响。结果显示,以 50% 甲醇超声提取 40 min 的效果最好,既简便可靠,又不会造成有效成分的破坏。

参考文献

- [1] 中国药典[S].一部. 2005.
- [2] 曾 阳,陈学军,陈振宁.藏药独一味的研究进展[J].中草药,2001,32(12):1141-1143.
- [3] 易进海,钟炽昌,罗泽渊,等.独一味根化学成分的研究(Ⅲ)[J].中草药,1990,21(12):2-5.
- [4] 李茂星,贾正平,张汝学.镇痛止血药独一味的研究概况[J].中药材,2004,27(3):222-224.
- [5] 靖 会,佐建锋,李教社.苯乙醇苷类化合物的药理研究进展[J].时珍国医国药,2006,17(3):440-441.
- [6] 许敬英,苏 奎,周 静.苯丙素苷类化合物的研究进展(Ⅱ)[J].时珍国医国药,2007,18(7):1770-1772.

(收稿日期 2009-02-18)

金丹颗粒的质量标准研究

浦香兰¹,许 枫²

(1. 江阴天江药业有限公司,江苏 江阴 214434; 2. 南京中医药大学,江苏 南京 210046)

摘 要:目的 建立金丹颗粒的质量标准。方法 采用 TLC 法对方中丹参、制何首乌进行定性鉴别,采用 HPLC 法测定制剂中丹酚酸 B。结果 TLC 法能特异性地鉴别丹参和制何首乌。丹酚酸 B 进样量在 0.416~2.08 μg 线性关系良好, $r=0.999\ 9$;平均加样回收率为 98.43%,RSD 为 0.97%。结论 该方法准确,可靠,重现性良好,可作为控制金丹颗粒质量的方法。

关键词:金丹颗粒;质量标准;TLC;HPLC

中图分类号:R286.4

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)03-0168-04

金丹颗粒是由丹参、制何首乌、山楂、金樱子经现代工艺加工而成的颗粒剂,具有降血压、调血脂的功效,主要用于高血脂、血液黏稠、动脉硬化所致的高血压和冠心病等的辅助治疗。为控制该制剂的内在质量,确保临床用药安全有效,本实验应用薄层色谱法建立了丹参和制何首乌的薄层鉴别方法,采用高效液相色谱法对主要有效成分丹酚酸 B 进行了测定。经试验证明,该法简便快捷,专属性强,结果满意,可作为该制剂的内控质量标准。

1 仪器与试药

1.1 仪器

LC-10AT 高效液相色谱仪(日本岛津公司);SPD-10A 紫外-可见检测器(日本岛津公司);N-2000 双通道色谱工作站(浙江大学智能信息工程研究所);CAMAG REPROSTAR3 薄层成像系统(瑞士 CAMAG 公司),超声清洗机(苏州昆山超声电子设备厂),Mettler-AE240 十万分之一分析天平(瑞士)。

1.2 试药

硅胶 G(青岛海洋化工厂),2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷(批号 110844-200505)、

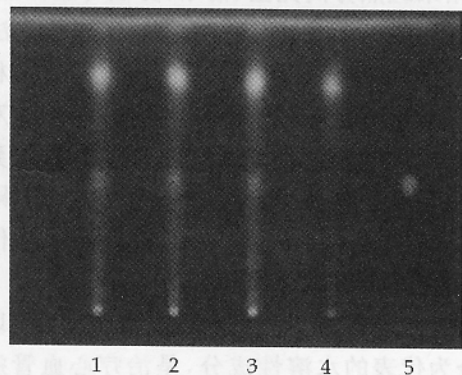
丹酚酸 B 对照品(批号 111562-200504)、丹参对照药材均购自中国药品生物制品检定所,乙腈、甲醇为色谱纯,水为重蒸水,其他试剂均为分析纯,金丹颗粒(批号 0802011、0802012、0802013)均由江阴天江药业有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别

2.1.1 制何首乌的薄层色谱鉴别

取金丹颗粒 2.0 g,加乙醇 30 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加乙醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液^[1]。另取缺制何首乌的阴性对照样品 2.0 g,加乙醇 30 mL,同法制成阴性对照溶液。再取 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷对照品,加甲醇制成 0.5 mg/mL 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 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-甲酸-水(20:1:1)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,在与对照品色谱相应的位置上显相同颜色的荧光斑点;而缺制何首乌的阴性对照则无此斑点。结果见图 1。



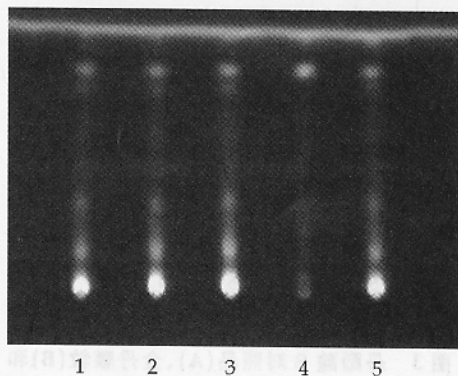
1~3-金丹颗粒样品 4-缺制何首乌阴性样品
5-2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷对照品

图 1 金丹颗粒中制何首乌的 TLC 图

2.1.2 丹参的薄层色谱鉴别

取金丹颗粒约 2.0 g,加 70%乙醇 30 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 20 mL 使溶解,加稀盐酸调节 pH 值至 2,再用乙醚振摇提取 2 次,每次 20 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^[1]。另取缺丹参的阴性对照样品约 2.0 g,同法制成阴性对照溶液。再取丹参对照药材 3.0 g,加 70%乙醇 30 mL,同法制成对照药材溶液。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 3 种溶液各 10 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-丙酮-甲酸(8:1:0.8)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颜色的荧光斑点;而缺丹参的阴性对照则无斑点干扰。结果见图 2。



1~3-金丹颗粒样品 4-缺丹参阴性样品 5-丹参对照药材

图 2 金丹颗粒中丹参的 TLC 图

2.2 丹酚酸 B 的测定

2.2.1 色谱条件

色谱柱:以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;流动相:甲醇-乙腈-甲酸-水(26:10:1:63);检测波长:286 nm;柱温:室温。理论板数按丹酚酸 B 峰计应不低于 2 000。

2.2.2 对照品溶液的制备

精密称取丹酚酸 B 对照品适量,加 75%甲醇制成 0.2 mg/mL 的溶液即得^[1]。

2.2.3 供试品溶液的制备

取金丹颗粒约 1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 75%甲醇 50 mL,称定质量,超声处理(功率 250 W,频率 50 kHz)40 min,放冷,再称定质量,用 75%甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,离心,即得^[1]。

2.2.4 阴性对照溶液的制备

取缺丹参的阴性对照样品约 1.0 g,精密称定,按供试品溶液制备方法,同法制成阴性对照溶液。

2.2.5 专属性试验

分别精密吸取丹酚酸 B 对照品溶液、供试品溶液及阴性对照溶液各 10 μ L,注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定。供试品溶液色谱峰中,在与丹酚酸 B 对照品相应的保留时间有吸收峰,而阴性对照溶液则在相应的保留时间无吸收峰出现,说明阴性对照无干扰。实验结果见图 3。

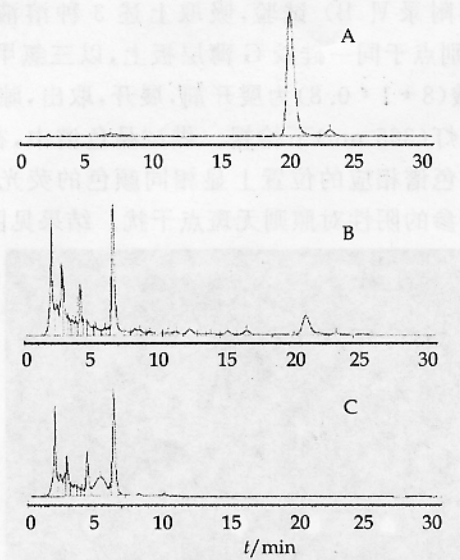


图3 丹酚酸B对照品(A)、金丹颗粒(B)和缺丹参阴性对照品(C)的HPLC图

2.2.6 线性关系考察

分别精密吸取 0.208 mg/mL 丹酚酸 B 对照品溶液 2、4、6、8、10 mL 置 10 mL 量瓶中,分别加 75% 甲醇稀释至刻度,摇匀,制成质量浓度分别为 0.041 6、0.083 2、0.124 8、0.166 4、0.208 mg/mL 的对照品溶液。分别精密吸取上述 5 种对照品溶液各 10 μL,按上述色谱条件进样。以峰面积积分值为纵坐标(Y),丹酚酸 B 进样量(X)为横坐标,得回归方程为:Y=921 915 X + 4 574,r=0.999 9。结果表明丹酚酸 B 在 0.416~2.08 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.2.7 精密度试验

分别精密吸取 0.208 mg/mL 丹酚酸 B 对照品溶液各 10 μL,按上述色谱条件重复进样 5 次,测定丹酚酸 B 峰面积积分值,计算其 RSD 为 0.36%。

2.2.8 重现性试验

取同一批(批号 0802013)金丹颗粒样品,平行 6 份,分别按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,分别进样 10 μL,测定样品中丹酚酸 B 的质量分数,结果表明金丹颗粒中丹酚酸 B 的质量分数为 3.2 mg/g,RSD 为 0.69%。

2.2.9 稳定性试验

取金丹颗粒(批号 0802013)的供试品溶液,分别于 0、2、4、6、8 h,进样 10 μL,测定丹酚酸 B 的峰面积,计算其 RSD 为 1.03%。结果表明,样品溶液在 8 h 内稳定。

2.2.10 回收率试验

取金丹颗粒(批号为 0802013)约 0.5 g,平行 6 份,精密称定,分别精密加入丹酚酸 B 对照品 1.45、1.60、1.75 mg,制备供试品溶液,分别进样 10 μL,测定金丹颗粒中丹酚酸 B 的质量分数,计算其回收率。结果平均加样回收率为 98.43%,RSD 为 0.97%。

2.2.11 样品测定

取 3 批金丹颗粒约 1.0 g,精密称定,分别制备供试品溶液,分别进样 10 μL,测定,外标法计算丹酚酸 B 的质量分数,结果见表 1。

表 1 金丹颗粒中丹酚酸 B 的测定结果(n=3)

批 号	丹酚酸 B/(mg·g ⁻¹)
0802011	3.3
0802012	3.0
0802013	3.2

3 讨论

在制何首乌的 TLC 法分析中,曾经参考《中国药典》2005 年版“何首乌”药材的鉴别方法,结果斑点不够清晰,分离度差。后经过多次反复试验,选用了醋酸乙酯-甲酸-水(20:1:1)作为展开剂,以 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷作为对照品,结果斑点分离完全、清晰,方法专属性强,重现性好,且阴性对照无干扰。在丹参的 TLC 法分析中,曾经参考《中国药典》2005 年版“丹参”药材的鉴别方法(2),选用丹酚酸 B 作为对照品,阴性对照在丹酚酸 B 同样的位置出现了斑点干扰,故放弃此方法。后经过反复实验,选用三氯甲烷-丙酮-甲酸(8:1:0.8)作为展开剂,以丹参对照药材作为对照,结果分离效果佳,重现性好。

对金丹颗粒中丹参进行了测定,丹参中以酚酸类成分为代表的水溶性成分,是治疗心血管疾病的主要成分[2]。采用了《中国药典》2005 年版方法对丹酚酸 B 进行测定,即流动相为甲醇-乙腈-甲酸-水(30:10:1:59),检测波长为 286 nm[1]。但由于复方中其他成分的影响,结果丹酚酸 B 的色谱峰与相邻的色谱峰有部分重叠,影响测定结果。为了减少杂质峰的影响,根据文献及多次试验[3-5],将流动相比比例更改为甲醇-乙腈-甲酸-水(26:10:1:63),得到的丹酚酸 B 的峰与其他干扰组分色谱峰能较好地分离,峰形较好,使得测定更方便、准确。

参考文献

[1] 中国药典[S].一部.2005.
[2] 杜冠华,张均田.丹参水溶性有效成分——丹酚酸研究进展[J].基础医学与临床,2000,20(5):10-14.

- [3] 张涛. 丹参提取工艺及复方丹参制剂临床应用概况[J]. 时珍国医国药, 1999, 10(5): 378-379.
- [4] 郭姣, 何伟, 陈宝田. 复方参茸调脂胶囊提取工艺的研究[J]. 中药材, 2006, 29(6): 598-600.

- [5] 李蓉, 毕华. 复方丹参注射液制备工艺中丹参提取工艺的研究[J]. 医学理论与实践, 2006, 19(6): 727-729.

(收稿日期 2008-12-01)

HPLC 法测定降糖益肾片中牛蒡苷

刘德茂¹, 史德胜²

(1. 大连公安医院 药剂科, 辽宁 大连 116011; 2. 天津丹溪国药研究所 中药室, 天津 300061)

摘要:目的 建立降糖益肾片的质量标准。方法 采用 HPLC 法测定降糖益肾片中的牛蒡苷。结果 HPLC 法能准确地测定牛蒡苷。进样量 0.050 2~0.401 6 mg/mL, 牛蒡苷质量浓度与峰面积呈良好的线性关系。 $r=0.999\ 9$; 平均加样回收率为 100.26%, RSD 为 1.50% ($n=6$)。结论 该方法准确、可靠, 重现性良好, 可作为控制降糖益肾片质量的方法。

关键词:降糖益肾片; 质量标准; HPLC

中图分类号:R286.4

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)03-0171-02

降糖益肾片是以牛蒡子为原料提取制得的中药制剂, 具有补肝益肾、逐瘀通经之功效, 临床常用于糖尿病及其急、慢性肾病并发症, 能显著改善糖尿病肾病症状, 具有良好的治疗作用。现代药理学研究结果表明, 牛蒡子中活性成分为牛蒡苷元, 口服时牛蒡苷在肠内菌的作用下很快转变为牛蒡苷元。由于药材中游离存在的牛蒡苷元较少, 故以牛蒡子中的牛蒡苷为指标成分。本实验采用 HPLC 法测定降糖益肾片中牛蒡苷, 该方法灵敏、准确, 可很好地控制降糖益肾片的质量。

1 仪器与试剂

LC-10A 型高效液相色谱仪(日本岛津); SPD-10A 紫外检测器(日本岛津); Anstar 色谱工作站; 乙腈为色谱纯, 水为蒸馏水, 其他试剂为分析纯。牛蒡苷对照品(批号 0819-200203)由中国药品生物制品检定所提供。降糖益肾片(批号 060312、060313、060314)由大公安医院制剂室提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Irregular C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 10 μ m); 流动相: 乙腈-水-10%磷酸(27:73:0.1); 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长: 280 nm; 柱温: 35 $^{\circ}$ C; 进样量: 20 μ L; 理论塔板数按牛蒡苷峰计算应不低于 1 500。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取牛蒡苷对照品 25.10 mg 置 25 mL 量

瓶中, 加甲醇溶解稀释至刻度, 摇匀, 作为储备液。精密量取 2 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 供试品溶液的制备

取本品 20 片(批号 060313), 研细, 取 0.03 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇适量, 超声处理 10 min, 再加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 0.45 μ m 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

2.4 线性关系考察

精密量取对照品储备液 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 吸取 20 μ L 进样, 记录峰面积。以对照品的浓度为横坐标(X), 以相应的峰面积为纵坐标(Y), 进行线性回归, 得回归方程 $Y=12\ 180\ 995\ X-628\ 779$, $r=0.999\ 9$ 。牛蒡苷在 0.050 2~0.401 6 mg/mL 与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

取对照品溶液(质量浓度 0.200 8 mg/mL), 依法进样 6 次, 每次 20 μ L, 测定, 结果峰面积 RSD 为 0.69%。

2.6 稳定性试验

取同一供试品溶液(批号 060313), 按“2.1”项下色谱条件, 于 0、2、4、6、8、24 h 进样, 测得牛蒡苷峰面积的 RSD 为 0.40%, 表明本品在 24 h 内测定结果稳定。

2.7 重现性试验