

金水宝片质量标准的研究

江西省药品检验所(南昌 330046) 许妍*

江西金水宝制药有限公司 梅玲华

摘要 用薄层色谱法鉴别金水宝片中氨基酸、甘露醇,用反相高效液相色谱法测定其腺苷含量;本品现行卫生部药品标准测定方法操作较繁,误差较大,采用本文方法后,定性、定量方法简便、灵敏、准确。表明建立的方法对控制本品质量更为完善。

关键词 金水宝片 腺苷 反相高效液相色谱法 薄层色谱法

金水宝片为发酵虫草菌粉经加工制成的片剂,临床上具有补肾保肺,秘精益气之功能。本品为单味制剂,其原料发酵虫草菌粉(Cs-4)与天然冬虫夏草有相似的化学成分。据研究,本品主要含有以下5种化学成分:①核苷类化合物和腺苷等;②甾醇类化合物;③糖及糖醇类化合物如甘露醇等;④氨基酸类化合物:游离氨基酸15种,水解氨基酸18种;⑤其它类化合物。药理实验表明^[1],腺苷为发酵虫草菌粉的活性成分之一,有明显的抗缺氧、降血脂等作用。

1 仪器与试药

Waters 209 系列高效液相色谱仪,501 泵,486 紫外检测器,740 积分仪。试剂均为分析纯,腺苷对照品由江西省药品检验所制备与鉴定,含量 $\geq 98\%$ 。甘露醇对照品为分析纯试剂,氨基酸对照品为生化标准制剂。金水宝片由江西金水宝制药有限公司提供。

2 鉴别试验

2.1 氨基酸:供试品溶液的制备:取本品,去薄膜衣,研细,取约 1.2 g,加水 10 mL,加热至沸,滤过即得。

对照品溶液的制备:取亮氨酸、丙氨酸和缬氨酸对照品,加水制成 1 mL 含亮氨酸和丙氨酸各 1 mg、缬氨酸 0.5 mg 的混合溶液即得。

吸取上述供试品溶液 3 μL 对照品溶液

2 μL ,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上,以正丁醇-冰醋酸-水(4:1:1)为展开剂展开,取出晾干,喷以 0.2% 茚三酮乙醇试液,热风吹至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应位置上,显相同颜色的斑点(图 1)。

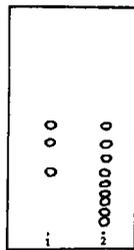
2.2 甘露醇:供试品溶液的制备:取含量测定项下的供试品溶液 15 mL,蒸干,加 50% 乙醇溶液 5 mL 使溶解,即得。

对照品溶液的制备:取甘露醇对照品,加 50% 乙醇溶液制成每 1 mL 含 9 mg 的溶液,即得。

吸取上述供试品溶液 3 μL ,对照品溶液 2 μL ,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以异丙醇-乙酸乙酯-水(9:6:2)为展开剂展开,取出,晾干,喷以茴香醛试液,在 130 $^{\circ}\text{C}$ 烘至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点(图 2)。

3 金水宝片的含量测定

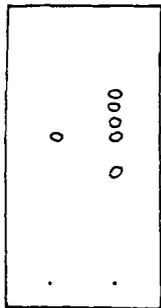
3.1 色谱条件与适应性实验:色谱柱:国产 YWG-C₁₈ 柱(4.6 mm \times 300 mm);柱温:室温;流动相:2% 四氢呋喃的磷酸缓冲溶液[0.066 mol/L KH₂PO₄-0.66 mol/L Na₂HPO₄



1. 氨基酸对照品 2. 供试品
图 1 金水宝片中氨基酸的 TLC 图谱

* Address: Xu Yan, Jiangxi Provincial Institute for Drug Control, Nanchang

许妍 1988 年毕业于中国药科大学中药系,获理学学士学位,一直在江西省药品检验所工作,任主管药师,从事中药鉴定和质量标准的研究,已发表论文数篇。



1. 甘露醇对照品
2. 供试品
图2 金水宝片中甘露醇的TLC图谱

(4:6)],流速1 mL/min,检测波长260 nm。理论板数按腺苷峰计算,应不低于3000。

3.2 线性关系的考察:精密称取105℃减压干燥至恒重的腺苷对照品10 mg置100 mL量瓶中,用50%乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀。吸取

2.5 mL于10 mL量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀。吸取2.5、5、10、15、20 mL分别置25 mL量瓶中,分别以流

动相稀释至刻度,摇匀。精密吸取各稀释液20 μL注入液相色谱仪,以峰面积Y为纵坐标,腺苷量X为横坐标,得到一近似通过原点的直线,计算得回归方程为: $Y=3\ 394\ 334X-24\ 128$, $r=0.9996$ 。结果表明,腺苷量在 $5\times 10^{-2}\sim 10\times 10^{-2}$ μg范围内与其峰面积呈现良好的线性关系。

3.3 供试品溶液的制备:取本品10片,去薄膜衣精密称定,研细混匀,精密称取1.2 g置50 mL量瓶中,加50%乙醇溶液约30 mL,超声处理30 min,取出放冷,用50%乙醇溶液稀释至刻度,摇匀。取25 mL置100 mL量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,静置,过滤,弃初滤液,取续滤液用0.45 μm的微孔滤膜过滤,收集滤液即得。

3.4 提取方法:提取溶剂及时间的考察,曾用过乙醇回流提取后再用硅胶柱和多种大孔树脂柱处理的方法、乙醇超声法、乙醇超声后再硅胶等柱除杂的方法,经液相色谱分析显示,图谱相近,因此采用乙醇超声液直接进样,方法简便,结果稳定。据文献^[2,3]报道,核苷类化合物易溶于水和乙醇,难溶于其它有机溶剂;而水煎煮液杂质较多,采用50%乙醇溶液为溶剂提取效果最好。通过试验不同的超声时间,结果表明超声时间30 min最为合适。

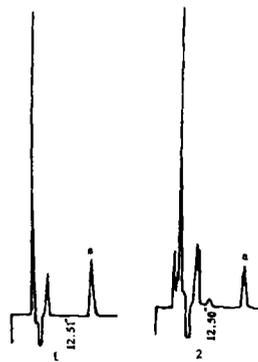
3.5 精密度试验:精密吸取浓度为10 μg/

mL的腺苷对照品溶液20 μL,重复进样6次,测定峰面积值,计算得到 $RSD=0.6\%$ 。

3.6 重现性试验:取同一批号样品6份,分别依法提取制成供试品溶液,进样20 μL测量峰面积并计算含量。结果表明,HPLC进样分析很好, $RSD=0.9\%$ 。

3.7 回收率试验:取已知含量的样品6份,精密称定,分别加入腺苷对照品,依法制成供试品溶液,并测定其峰面积。结果为98.91%, $RSD=1.3\%$ 。

3.8 样品的测定:分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各20 μL,照上述色谱条件测定(色谱图见图3),按外标一点法计算腺苷含量,同时用薄层紫外分光光度测定法作对照试验,结果见表1。从表1可知,HPLC法和紫外分光光度法所测定腺苷含量比较无显著性差异。



1. 腺苷对照品 2. 供试品
图3 金水宝片中腺苷的HPLC色谱图

氨基酸的TLC鉴别是对本品中含量较多的氨基酸的斑点进行了归属,使薄层鉴别的信息增加,更具鉴别意义。原部颁标准中规定不少于5个斑点,但由于有些斑点是不常见氨基酸,归属有一定困难,因此只对亮氨酸等3个斑点进行了斑点鉴别。

表1 对照试验结果(n=3)

批号	HPLC法 (毫克/片)	RSD(%)	紫外分光光度法 (毫克/片)	RSD(%)
971207	0.67	0.8	0.65	1.7
971208	0.59	0.6	0.55	1.9
971209	0.63	0.7	0.60	2.0

原部颁标准用纸层析鉴别甘露醇,斑点易扩散,操作难以掌握,现改用薄层鉴别,斑点圆整、集中,效果更好。

参考文献

1 吕瑞绵,等. 微生物学通报,1983,9(4):166

薄层扫描法测定真心平胶囊中延胡索乙素含量

天津市药品检验所(300070) 王杰* 李建 吕归宝

摘要 采用硅胶 G 薄层层析对含有延胡索、丹参等 7 味药材的制剂中延胡索乙素进行分离分析,得到分离度高、背景干扰小的薄层层析图谱。建立了含量测定的方法,平均回收率为 100.58%,RSD 为 2.3%($n=5$)。

关键词 真心平胶囊 延胡索乙素 薄层色谱法

真心平胶囊由延胡索、丹参、栝楼等中药组成。延胡索为主药,其主要成分为延胡索乙素,该制剂质量标准研究中选择了延胡索乙素为含量测定成分。本方法采用氨水碱化后直接乙醚提取,利用硅胶 G 薄层层析对样品进行分离分析,建立了真心平胶囊中延胡索乙素含量测定方法

1 实验部分

1.1 仪器与试剂:岛津 CS-9000 型薄层扫描仪,定量毛细管(CAMAG 公司);延胡索乙素对照品(中国药品生物制品检定所);真心平胶囊由天津万通药业有限公司提供;试剂均为分析纯。

1.2 供试液的制备:取真心平胶囊内容物 10 g 精密称定,置 250 mL 棕色锥形瓶中,加入浓氨水 40 mL,摇匀,超声提取 20 min,精密加入乙醚 100 mL,精密称定重量,超声提取 2 h,放至室温,精密称定重量,用乙醚补足重量。摇匀,倾出上清液,精密吸取 50 mL,减压浓缩至干。用氯仿转入 5 mL 容量瓶中,加氯仿至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

1.3 对照品溶液的制备:精密称取延胡索乙素对照品,用氯仿溶液使成 1 mg/mL 溶液,作为对照品溶液。

1.4 薄层层析及扫描:分别定量吸取供试品溶液 10 μ L,对照品溶液 2、4 μ L,分别点于同一含羧甲基纤维素钠的硅胶 G 薄层板上,以苯-丙酮(8:2)为展开剂上行展开,展距 10 cm,取出,晾干,喷以改良碘化铋钾试液,用冷风吹干,双波长锯齿扫描,测定波长 500 nm,参比波长 570 nm,狭缝 1.0 mm \times 1.0 mm, $S_x=3$,灵敏度 $\times 1$,按外标两点法计算得供试品液中延胡索乙素含量。

2 结果

2.1 提取方法的选择:据文献报道延胡索乙素溶于乙醚和氯仿,提取前先用浓氨水进行碱化,使延胡索乙素游离,然后用乙醚提取。

2.2 提取时间的考察:选用同一批号样品,分别进行 1.5、2、2.5、3 h 超声处理,点在同一板上,测定延胡索乙素的含量,结果见表 1。

表 1 提取时间的考察

时间(h)	1.5	2	2.5	3
含量(mg/g)	0.17	0.22	0.22	0.18

测定数据表明,选定提取时间为 2 h。

2.3 碱化方法的选择:开始选用浓氨水 20 mL 碱化,但在实验中发现,加浓氨水后样品很快成膏状,加入乙醚提取时,膏体不能充分

* Address: Wang Jie, Tianjin Municipal Institute for Drug Control, Tianjin

王杰 1984 年毕业于沈阳药科大学药理学系,理学学士,主管药师,主要从事新药审批、药品检验,以及各级标准的起草,主要论文《厚朴中季胺碱的研究》[日本 Natural Medicines, 1996, 50(6): 413],《气相色谱法测定开元活血贴中樟脑、冰片的含量》[中药新药与临床药理, 1998, 9(2)]等。