

适的浓度

近年来,分子遗传标记技术逐渐应用于中药材的鉴定^[2-8]。这一技术的应用,首先必须能够从药材中抽提出 DNA。在中药材加工过程中,许多药材经过高温蒸煮、炮制、煎制等过程,能否从这些药材中提得 DNA,是分子遗传标记技术能否广泛用于中药材真伪鉴定的关键。本研究表明,经高温高压蒸煮过的鳖甲或骨骼中仍含有大量的 DNA,用一般的 DNA 提取方法,即能从少量的鳖甲样品中提得足够的 DNA,用扩增线粒体 12S rRNA 基因片段,通过用引物进行 PCR 扩增,能获得稳定的阳性产物。从而给我们一个重要的启示,即经过高温、高压蒸煮过

的中药材也可以获得用于 PCR 扩增的微量 DNA,本实验的结果为分子遗传标记技术广泛应用于中药材的真伪鉴定提供了基础资料。

参考文献

- 1 王亚明,等.药学报,1996,31(6): 472
- 2 吴平,等.药学报,1998,33(4): 304
- 3 王义权,等.药学报,1997,32(5): 384
- 4 Hashimoto A, *et al.* Natural Medicines, 1998, 52(1): 38
- 5 Fushimi H, *et al.* Phytomedicine, 1996, 3: 387
- 6 吴平,等.中国药科大学学报,1998,29(1): 28
- 7 王建云,等.中国药科大学学报,1996,27(8): 471
- 8 王义权,等.药学报,1998,33(12): 941

(1999-04-02收稿)

HPLC法测定汉丹肝乐胶囊中芍药苷的含量[△]

贵阳制药厂(550004)

冯艳明* 叶丽梅

贵阳医学院

杨继红

摘要 采用 HPLC 法测定汉丹肝乐胶囊中芍药苷的含量。色谱柱 C₁₈ 柱,流动相甲醇-水(28: 72),检测波长 230 nm,流速 1 mL/min,柱温室温,灵敏度 0.04 AUFS。结果芍药苷在 0.049~0.868 μg 范围线性良好, $r=0.9999$,平均回收率为 99.3% ($n=5$), $RSD=2.0\%$ 。

关键词 汉丹肝乐胶囊 芍药苷 HPLC 法

汉丹肝乐胶囊系由汉防己、丹参、赤芍、黄芪、银杏叶等 5 味中药制成的复方制剂,具有活血化瘀、舒肝理气的功能,用于治疗各种病因所致的肝纤维化及肝硬化。为了更好地控制质量,我们采用 HPLC 法对君药之一的赤芍主要成分芍药苷进行含量测定。经方法学考察,认为本法简便、准确、无干扰,可用于本品质量控制。

1 仪器、试剂与药品

IC-9A 高效液相色谱仪(日本岛津), SPD-6AV 检测器, C-R6A 积分仪; GQ250 超声波清洗器(上海超声仪器厂); 751 紫外分光光度计(日本岛津)。

芍药苷对照品(中国药品生物制品检定所 0736-9608, HPLC 归一化法测得含量为 97.06%); 汉丹肝乐胶囊及其缺赤芍空白样品(自制); 试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: YWG-C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 粒

径 10 μm), 流动相甲醇-水(28: 72), 检测波长 230 nm, 柱温室温, 流速 1 mL/min, 灵敏度 0.04 AUFS, 进样量 10 μL。此条件下, 样品中芍药苷与其他组分峰达到基线分离, 理论塔板数按芍药苷峰计算为 4 619, 芍药苷保留时间为 14.44 min, 空白试验表明无干扰。

2.2 实验条件选择: ① 检测波长: 据文献值^[1], 并对芍药苷的 50% 乙醇溶液进行紫外波长扫描, 结果表明芍药苷在 230 nm 处呈最大吸收, 以此为检测波长, 经 HPLC 试验, 图谱分离效果好。② 流动相: 据文献值^[2,3], 大都采用甲醇-水系统, 我们采用不同比例的甲醇-水进行试验, 结果表明选用甲醇-水(28: 72)为流动相, 分离效果好。③ 提取溶剂与方法: 曾采用水和 50% 乙醇为溶剂, 分别以浸润后提取与直接提取、回流法与超声波振动法进行对比试验, 结果差异不明显, 以 50% 乙醇超声波振荡提取法较为简便, 效果好。④ 提取时间: 将供试品用 50% 乙醇进行

* Address: Feng Yanming, Guiyang Pharmaceutical Factory, Guiyang

冯艳明,女,工程师。1982年毕业于华西医科大学化学制药专业,学士学位。从事制药工程工艺设计、生产技术管理及天然药物开发研制。曾在《中国中药杂志》、《中成药》等杂志上刊登论文数篇。

[△]贵州省“九·五”攻关项目,黔科合计字(1996)1028号

超声波振荡,分别对 15, 30, 45, 60, 90 min 进行考察,结果表明用 50%乙醇对供试品进行超声波振荡 15 min,可将芍药苷提取完全

2.3 供试品溶剂制备:①对照品溶液:精密称取芍药苷对照品,加 50%乙醇制成每 1 mL含芍药苷 248 μ g的溶液 ②供试品溶液:取汉丹肝乐胶囊内容物适量,研细,精密称取 0.05 g,置 25 mL容量瓶中,加 50%乙醇 20 mL,超声波振荡 15 min,冷后加 50%乙醇至刻度,摇匀,滤过,弃去初滤液,取续滤液作为供试品溶液 ③空白溶液:取缺赤芍空白对照品研细,按供试品溶液制备方法进行制备,得空白对照品溶液。

2.4 线性考察:精密吸取芍药苷对照品溶液 (248 μ g/mL) 0.2, 0.5, 1.0, 1.5, 2.5, 3.5 mL,分别置 10 mL量瓶中,加 50%乙醇至刻度,摇匀,分别精密吸取 10 μ L,注入高效液相色谱仪,依法测定峰面积,以峰面积对芍药苷进样量进行回归处理,得回归方程 $Y=44\,513X-168$, $r=0.999\,9$,表明芍药苷在 0.049~ 0.868 μ g范围内具有良好线性关系。

2.5 精密度试验:①对照品试验:精密吸取对照品溶液 5 μ L,重复进样,依法测定峰面积,求得 $RSD=2.29\%$ ($n=6$)。②供试品试验:精密吸取供试品溶液 10 μ L,同上法试验,求得 $RSD=0.53\%$ ($n=5$)。

2.6 稳定性试验:①日内稳定性试验:精密吸取供试品溶液于 0, 1, 2.5, 4, 6, 8 h各进样一次,求得 8 h内 $RSD=0.8\%$ ($n=6$)。②日间稳定性试验:精密吸取供试品溶液,于 0, 24, 48, 72 h进样测定,求得 $RSD=1.14\%$ ($n=4$)。

2.7 重复性试验:取同一批号汉丹肝乐胶囊内容物适量,研细,按供试品溶液制备方法平行处理数份,依法测定,求得 $RSD=1.75\%$ ($n=6$)。

2.8 回收率试验:采用加样回收法。精密称取已测知含量的样品数份,分别精密加入适量的芍药苷对

照品,按供试品溶液制备方法进行处理,依法测定,计算回收率为 99.30%, $RSD=2.09\%$ ($n=5$)。

2.9 样品含量测定:分别取不同批号样品,按供试品溶液制备方法进行处理,依法测定,结果见表 1。

表 1 样品中芍药苷含量测定

批号	含 量 (%)		$\bar{x}\%$
980201	1.55	1.52	1.54
980501	1.54	1.56	1.55
980901	2.15	2.14	2.15
980201	1.68	1.66	1.67
990401	2.13	2.10	2.12

2.10 药材含量测定:分别取 3批赤芍药材,干燥,粉碎 (60目),取细粉按供试品溶液制备方法进行处理,依法测定,结果见表 2。

表 2 赤芍中芍药苷含量测定

购买时间 (年 月)	含 量 (%)		$\bar{x}\%$
1998-08	2.70	2.71	2.71
1998-02	2.99	3.03	3.01
1999-09	3.77	3.84	3.80

3 讨论

3.1 据中华人民共和国药典^[1]要求赤芍中含芍药苷不得少于 2.0%,本文所测定药材含量均达到规定,为产品质量控制奠定了良好的基础。

3.2 据不同批号样品芍药苷含量测定结果表明,各批号之间有较大差异,揭示在保证药材质量的前提下生产过程中需要进一步优化,稳定生产工艺,保证产品质量稳定可控。

3.3 本文测定方法经各项试验考察,结果表明方法灵敏、可靠、重现性好,可用于本品质量控制。

参 考 文 献

1 中华人民共和国药典 (95版一部). 广州: 广东科技出版社, 1995 142
2 张世勤,等. 中国中药杂志, 1994, 19(9): 549
3 王春明,等. 药物分析杂志, 1995, 15(2): 52

(1999-04-02收稿)

湖南省南洋专修学院大学 中专招生及新版书信息

本校是经省教委批准的一所综合性大学,以培养高级和中级实用人才为办学宗旨,每年的春秋两季面向社会招收全日制住读生及业余函授生,层次分为本科、大专及中专。专业设备:临床医学、中医、口腔学、护理学、药 学、医学影像、医学检验、经济管理、计算机应用、法律、英语、公文文秘、市场营销、会计、旅游管理、工艺美术、工民建、服装、电子、国际贸易、金融、行政管理等。

本校环境幽雅,设施齐全,学习结束考试合格,发国家承认学历的毕业证书。欲报名者请来信,并寄 3元资料费,索取彩印招生简章(为防途中遗失,来信请挂号)。我校欲在全国各地设招生代办点,待遇优,也接洽有关人员及单位搞联合办学,有意者可来函来电洽谈。

另:我校书社经销 19家著名出版社医药类书六千多种,分中西医、中西医结合、药 学、护理、医教材(成人及自考、执业医师资格考试等);中青年及中学生读物八千多种,分中外名著、科普、科幻、武侠、文娱体育、音乐、校园小说、美术、摄影、集邮、高考、中考参考书、初、高中文化辅导书等。并备有详细说明及价格目录,寄 2元索取书目。

信寄:湖南长沙市国庆新村 5片 1栋南洋专修学院及电大招生办 131室 孙武平主任或张柳丽老师收
邮编: 410008 电话: 0731- 4496486 手机: 013607431435 本广告常年有效