

精密加入内标溶液 1 mL,用流动相稀释至刻度,摇匀,依本文方法进行测定,以进样量 X 为横坐标,峰面积 Y 为纵坐标,绘制标准曲线,其回归方程为: $Y = 0.7964 - 9.92087X$, $r = 0.9999$ 天麻素进样量在 $1 \sim 10 \mu\text{g}$,内标物在 $0.32 \mu\text{g}$ 时与峰面积呈良好的线性关系。在本文液相色谱分离条件下,当信噪比为 3:1 时,天麻素的最低检测限为 $0.05 \mu\text{g}$ 。

3.5 加样回收率测定:精密称取已知含量的同一批天麻素原料约 20 mg 共 3 份,分别置于 50 mL 量瓶中,各精密加入对照品 3.1, 6.5, 7.3 mg,再各加 2 mL 内标溶液,用流动相溶解并稀释至刻度,照 3.2.1 项下方法操作,测定平均回收率为 99.87%, RSD 为 0.46%, ($n = 5$)。

3.6 制剂回收率测定:取天麻素适量精密称定,按照片剂、胶囊剂及针剂处方制备模拟样品各 5 份,各份均依制剂含量测定项下方法操作;计算方法回收率,分别为:片剂 99.30%, RSD 为 1.20%;胶囊 99.8%, RSD 为 0.88%;针剂 100.2%, RSD 为 0.60%,证明方法精密度良好。

3.7 精密度实验:取线性范围测定用 3 种浓度的溶液,分别进样 $10 \mu\text{L}$,重复测定 5 次, RSD 为 0.57%,证明精密度良好。

3.8 稳定性实验:取原料及各制剂测定用溶液,在不同时间进样、分析,测定日内、日间 RSD 皆小于 0.7% 及 0.8%,证明方法稳定性良好。

3.9 干扰性实验:各精密称取按处方配比的天麻素片剂辅料、胶囊剂辅料细粉适量,精密吸取天麻素针剂不添加主药的空白溶剂适量,用流动相溶解。按各制剂项下含量测定方法操作,进样分析,在天麻素

内标物、杂质的保留时间处均无任何峰出现,表现各剂型的辅料均不干扰(图 1-B, C)。

3.10 样品的测定结果:用本文测定方法检验的原料及制剂含量,结果见表 1。

表 1 样品中天麻素的含量测定结果 ($n = 4$) (%)

编号	含量	RSD
原料-1	91.56	0.7
原料-2	93.08	0.6
原料-3	92.45	0.5
片剂-1	100.21	1.2
片剂-2	98.36	1.02
片剂-3	98.90	0.85
针剂-1	101.25	0.8
针剂-2	100.37	0.7
针剂-3	101.70	0.7
胶囊-1	98.25	1.1
胶囊-2	99.60	0.9
胶囊-3	100.54	0.8

4 讨论

4.1 在 HPLC 法测定天麻素时,发现在天麻素对照品与原料中都存在一相同保留时间的杂质峰,根据研究资料,推断此杂质可能为天麻素水解苷元——对羟基苯甲醇。用归一化法计算,天麻素对照品中,该杂质含量为 4%~5%,原料中为 9%~11%;同样,该未知物也存在于天麻素的各种制剂中。

4.2 本法准确度高,重现性好,简便、快速,可作为天麻素及其系列制剂的质量控制方法。

参考文献:

- [1] 杨世林,兰进,徐锦堂.天麻的研究进展[J].中草药,1999,31(1):66.
- [2] 中国药典[S].二部,1995.
- [3] 云南省药品标准.天麻素[S].滇Q/WS616-1980.
- [4] 袁倚盛.HPLC系统的故障排除[M].南京:南京大学出版社,1991.

聚酰胺薄层扫描法测定清暗颗粒中黄芩苷的含量

倪艳¹,刘桂霞²,刘霞¹,李先荣^{1*}

(1. 山西省中医药研究院,山西 太原 030012; 2. 天津中医学院,天津 300193)

中图分类号: R927.2

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2001)06-0515-02

清暗颗粒是由黄芩、薄荷、玄参、诃子等多味中药组成的复方制剂,经提取精制成颗粒制剂,药理实

验及多年临床实践证明,本品具有疏风散热、消肿止痛、清肺开音之功效,多用于风热毒邪壅肺之急喉

* 收稿日期: 2000-06-12

作者简介: 倪艳(1965-),女,山西五寨人,副主任药师,理学学士学位,1986年毕业于沈阳药科大学中药系,一直在山西省中医药研究院从事中药新药的开发研究,主要负责其中制备工艺的设计与研制,质量标准的制定等工作。
电话: 0351-4168040 传真: 0351-4168050

暗。为了更好地监控其质量,我们采用薄层扫描法对其君药黄芩中黄芩苷的含量进行了测定

1 仪器与试药

CS-930型双波长薄层扫描仪,定量点样毛细管,UV-8紫外分析仪,SB3200型超声提取器,聚酰胺薄膜(20 mm× 20 cm,浙江黄岩四青生化材料厂),黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所),清暗颗粒样品(本院中药中试基地生产),其它所用试剂均为分析纯。

2 实验条件

2.1 色谱条件:层析板:聚酰胺薄膜;展开剂:30%醋酸,展距:10~12 cm;定位:置紫外光灯365 nm下检视。

2.2 扫描条件:反射式锯齿扫描,λ_s=294 nm,灵敏度中等,背景校正 ON, S_x=3,狭缝1.2 mm× 1.2 mm

3 方法与结果

3.1 提取条件的优选:取本品加甲醇,不同时间超声处理及回流提取,试验结果,选择超声处理30 min对甲醇提取后的处理方法考察结果,选择定量取部分溶液,蒸干后分别用乙醚提取除杂、水饱和正丁醇提纯处理后,50%乙醇定容。结果表明,所得样品干扰成分少,测定数据稳定,重现性好。

3.2 溶液制备:供试品溶液的制备:取本品约200 mg,精密称定,置250 mL三角烧瓶中,精密加甲醇50 mL,精密称定,超声处理30 min,放冷,精密称定,用甲醇补足减失的重量,滤过,弃去初滤液,精密量取续滤液25 mL,置水浴上蒸干,残渣加水20 mL,分次溶解并置分液漏斗中,用乙醚振摇提取3次,弃去乙醚液,水层续用水饱和正丁醇振摇提取5次,合并正丁醇液,于水浴蒸干,残渣加50%乙醇溶液微热使溶解,定量转移至5 mL量瓶内并稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液,备用。

对照品溶液的制备:精密称取黄芩苷对照品20.0 mg,置25 mL量瓶中,加50%乙醇溶液,水浴微热使其溶解,并稀释至刻度,摇匀,分别吸取1.25,2.5,5.0,7.5 mL于10 mL量瓶中,加50%乙醇溶液至刻度为0.10,0.20,0.40,0.60,0.80 mg/mL对照品系列溶液,备用。

阴性对照溶液的制备:按处方量称取除黄芩外的其它药味,按处方工艺制备缺黄芩的颗粒剂,再按供试品溶液制备方法同法操作,制得缺黄芩的阴性

对照溶液,备用。

3.3 薄层色谱:精密吸取供试品溶液、黄芩苷对照品溶液(0.20 mg/mL)及阴性对照液各1 μL,分别点于同一聚酰胺薄膜上,按前述条件展开,取出,冷风立即吹干溶剂后,在紫外光灯(365 nm)下,黄芩苷呈暗紫褐色斑点,供试品色谱与黄芩苷色谱相应位置显相同颜色的斑点,阴性对照品色谱相应位置无斑点。

3.4 稳定性试验:精密吸取对照品溶液(0.2 mg/mL)1 μL,用定量毛细管点于聚酰胺薄膜上,按上述条件层析,扫描测定,每隔30 min测定面积值1次,连续2 h,面积积分值基本不变,其RSD=1.27%。

3.5 精密度试验:在同一聚酰胺薄膜上,点黄芩苷对照品溶液1 μL,依次点5点,层析,扫描测定各斑点面积积分值,其RSD=2.34%,表明具有较好的精密度。

3.6 标准曲线的绘制:用定量毛细管精密吸取黄芩苷对照品溶液各1 μL,依次点于同一块聚酰胺薄膜上,按上述条件层析,扫描测定,以斑点面积积分值为纵坐标,对照品点样量为横坐标,绘制标准曲线,回归方程Y=105 478.7X+26 572.96,r=0.999 8,结果表明,黄芩苷在0.10~0.80 μg范围内呈良好线性关系。

3.7 加样回收率试验:精密称取已知含量的样品3份,每份100 mg,分别精密加入对照品1.6 mg,按供试品溶液制备和样品测定项下操作,测得加收率为97.5%,RSD=1.56%。

3.8 样品测定:精密吸取供试品溶液1 μL,0.2 mg/mL及0.6 mg/mL对照品溶液各1 μL,分别点于同一块聚酰胺薄膜上,按上述条件展开,测定,以外标两点法测定供试品中黄芩苷含量,结果见表1。

表 1 样品的含量测定结果

批号	取样量 (mg)	黄芩苷含量 (mg/g, n= 3)	RSD (%)
990315	198.7	15.87	3.4
990327	222.0	14.50	2.7
990507	215.1	15.58	3.0

4 讨论

黄芩苷是中药黄芩的特征成分,含量测定方法文献报道较多,但由于地方条件的限制,仍采用薄层扫描法。文中采用聚酰胺薄膜扫描法进行黄芩苷的含量测定,经试验,选用紫外294 nm下测定其含量,灵敏度、稳定性及重视性均好,且阴性(缺黄芩)无干扰,结果较为满意。