2.2 样品制备:将样品片剂 20片研成细粉,精密称取两份各约 50 mg,分别精密加入 50 mL的水解液,超声提取 20 min(40℃),取出放置至室温,过滤,弃粗滤液,精密吸取续滤液 25 mL于 50 mL的量瓶中,以甲醇定容至刻度,摇匀,过 0.45 μ m的滤膜即得供试品溶液。

2.3 重现性考察:取同一批号样品,按样品制备方法制备成供试品液,重复操作 5次,分别进样 20 μ L,以槲皮素、山奈酚、异鼠李素面积为指标,分别观察重复性,结果其峰面积的 RSD值分别为 0.80%, 0.27%, 2.10%。

2.4 精密度考察:取同一供试品,按上述色谱条件连续进样 5次,每次 20 μ L,以槲皮素、山奈酚、异鼠李素峰面积为指标,结果其 RSD分别为 0.48%, 0.37%, 1.74%。

2.5 稳定性考察:取一样品,按样品制备方法制成供试品液,0.5, 1, 2, 4, 8, 12 h分别进样 20 μ L,测定峰面积,结果槲皮素、山奈酚、异鼠李素峰面积 RSD分别为 0.64%, 1.9%, 2.5% ($n=6$)。

2.6 回收率测定:以槲皮素为测定指标,在已知含量样品溶液中分别加入槲皮素对照品溶液(约为已知样品中槲皮素量的 80%、100%、120%),配成供

试品液,再分别按上述色谱条件测定其含量,计算得平均回收率为 98.25%, RSD= 1.15% ($n=6$)

2.7 样品测定:将样品制备成不同批号的供试液,测定峰面积,再换算总黄酮含量,总黄酮的含量= 2.51(槲皮素+ 山奈酚+ 异鼠李素的量)^[3]。计算金奥立片剂中总黄酮的含量,结果见表 1

表 1 金奥立片中总黄酮含量测量结果 ($n=3$)

批号	总黄酮的含量 (mg/片)
00210506	13.25
00210508	13.75

3 讨论

3.1 本品有效成分含量较少,采用酸水解超声波震荡提取方法有利于提取完全

3.2 水解后样品中山奈酚的含量较高,若分别用槲皮素、异鼠李素和山奈酚 3个指标同时做对照品测定,结果会更合理,但由于山奈酚对照品无法购到,所以本实验只用槲皮素作对照,参照药典,换算出总黄酮的含量

参考文献:

- [1] 张晓琦,陈颖怡. HPLC法测定银杏叶提取物中槲皮素的含量[J]. 色谱, 1994, 12(7): 302-303.
- [2] 王俊德,熊博晖,丛润滋. 用 HPLC法分析银杏黄酮时几个问题的探讨[J]. 分析化学, 1999, 27(9): 1076-1078.
- [3] 中国药典[S]. 2000年版. 一部.

紫外分光法测定知母总皂苷元的含量

梁卫文,赵邦爱,杨淑华*

(深圳太太药业股份有限公司,广东 深圳 518057)

知母为百合科植物知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bge.的干燥根茎,具有清热泻火,生津润燥,止渴除烦作用^[1,2]。知母总皂苷元是知母药材经水解提取精制而成,能明显降低衰老小鼠脑 β 受体-cAMP系统的反应性,重现知母的下调作用^[3],并且能提高衰老小鼠脑内受体密度^[4]。深圳太太药业股份有限公司已经将知母皂苷元开发成为一个中药二类新药,主治现代医学中早、中期老年痴呆症及脑功能减退(学习、记忆减退或某些性格改变)等症。为控制该药品的内在质量,本实验采用分光光度法测定知母总皂苷元含量,方法简单、快速、重现性好,结果满意。

1 仪器与试剂

SHIMADZU UV-2401PC紫外-可见分光光度仪。试剂均为分析纯,菝葜皂苷元对照品(含量测定用,由中国药品生物制品检定所提供);所有供试品均为深圳太太药业股份有限公司自制

2 实验方法

2.1 对照品溶液的制备:精密称取菝葜皂苷元对照品 16.8 mg,置 100 mL量瓶中,加无水乙醇适量,水浴加热 10 min并振摇使溶解,放冷,加无水乙醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2 标准曲线的制备:精密量取对照品溶液 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 mL分别置 25 mL量瓶中,各精

* 收稿日期: 2001-10-03

作者简介:梁卫文(1968-),男,贵州毕节人,工程师,执业药师,理学硕士,1992年毕业于中山大学生物系,主要从事新药开发研究工作。

Tel (0755) 6968888-290

密加入无水乙醇 8.0, 6.0, 4.0, 2.0, 0.0 mL, 摇匀, 精密加入 15.0 mL 硫酸摇匀, 密塞。70℃水浴保温 30 min 冷却后, 加无水乙醇至刻度, 摇匀, 以相应溶液为空白, 在 285 nm 波长处测定吸光度。以吸光度为纵坐标, 浓度为横坐标, 绘制标准曲线。线性回归方程为: $Y = 1.913X - 0.00320$, $r = 0.9996$ 在 0.326~1.680 mg 范围内对照品的量与吸光度有良好的线性关系。

2.3 供试品的制备及测定: 取知母总皂苷元 10 mg, 精密称定, 置 100 mL 量瓶中, 加无水乙醇适量, 水浴加热 10 min 并振摇使溶解, 放冷, 加无水乙醇稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 10 mL, 置 25 mL 量瓶中, 照标准曲线制备项下的方法, 自“精密加入 15.0 mL 硫酸”起依法测定吸光度, 从标准曲线上读出供试品溶液中相当于菝葜皂苷元的量, 计算, 即得。

2.4 测定条件的选择

2.4.1 测定波长的确定: 吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 mL, 依法操作, 显色后测定对照品及样品光谱, 对照品及样品光谱最大吸收波长可见光区为 (405±2) nm; 紫外光区为 (285±2) nm; 紫外末端为 (206±2) nm。由于紫外末端及可见光区吸收度稳定性及重复性均不及紫外光区, 所以选用紫外光区 285 nm 为含量测定波长。

2.4.2 显色时间的确定: 吸取对照品溶液 10 mL, 依法操作, 显色后在 285 nm 测定对照品吸光度, 结果显色 20~60 min, 吸光度均稳定, 所以显色确定为 30 min。

2.5 稳定性试验: 按上述供试品配制方法, 取 980601 批样品配制成 0.163 mg/mL 溶液, 取 10 mL 按上述方法测定吸光度值, 共测定 3 h, 吸光度值 $RSD = 0.3\%$ ($n = 3$), 证明知母总皂苷元在 3 h 内测定结果均稳定。

2.6 精密度试验: 按上述供试品溶液配制方法, 取 980601 批样品, 配制成 0.163 mg/mL 溶液, 取 10 mL 测定吸光度值, 共测 5 次, 结果 $RSD = 0.12\%$ 。

2.7 重复性试验: 取 980601 批样品, 称取 5 份, 测定含量, 结果知母总皂苷元含量的 $RSD = 0.81\%$ 。

2.8 回收率试验: 采用加样回收法。称取菝葜皂苷元对照品 0.0163 g, 依法用无水乙醇溶解, 定容至 100 mL。另定量称取 980601 批样品 (含量为 86.0%) 0.0180 g, 依法用无水乙醇溶解, 定容至 100 mL, 各取 5 mL 分置 5 个 25 mL 的量瓶中, 再各加入上述对照品溶液 5 mL, 依法用无水乙醇定容。测定, 平均回收率为 99.5%, $RSD = 1.27\%$ 。

2.9 样品测定: 按供试品制备及测定方法测定了 6 批样品中知母总皂苷元含量, 结果见表 1。

表 1 样品中知母总皂苷元含量测定结果

批号	知母总皂苷元含量 (mg/g)
971101	895
971102	887
971103	899
980601	860
980602	848
980603	826

3 讨论

3.1 知母总皂苷元是二类中药新药, 为有效部位, 经 GC-MS 分析知: 知母总皂苷元主要由菝葜皂苷元、异菝葜皂苷元、替告皂苷元、新替告皂苷元等甾体皂苷元组成, GC-MS 内标法测定几种皂苷元总含量为 80%~90%。由于 GC-MS 仪器昂贵, 操作复杂, 日常检验并不可行, 用紫外分光法测定知母总皂苷元含量是简单可行的好方法。

3.2 知母总皂苷元易溶于苯、氯仿, 微溶于无水乙醇, 由于硫酸与无水乙醇完全混合, 所以选无水乙醇为溶剂; 而且样品在无水乙醇中溶解度较小, 所以称样量控制在 10~20 mg, 需要加热才能完全溶解。

3.3 整个操作过程保持无水状态, 否则不能完成。

参考文献:

- [1] 黄泰康. 常用中药成分与药理手册 [M]. 北京: 中国医药出版社, 1994.
- [2] 国家中医药管理局. 中华本草 [M]. 上海: 上海科技出版社, 1998.
- [3] 易宁育, 夏宗勤, 胡雅儿. 知母及其皂苷元对 β 肾上腺素受体的调节作用 [J]. 中药药理与临床, 1992, 8(5): 40-44.
- [4] 胡雅儿, 易宁育, 何路明. 知母对老年动物 M 受体数调整作用的机理 [J]. 中药药理与临床, 1994, 10(2): 10-13.

《中草药》杂志被确认为允许刊载处方药广告的第一批医药专业媒体

根据国家药品监督管理局、国家工商行政管理局和新闻出版署发布的通知, 《中草药》杂志作为第一批医药专业媒体, 允许发布“粉针剂、大输液类和已经正式发文明确, 必须凭医生处方才能销售、购买和使用的品种以及抗生素类的处方药”的广告。

医药专业媒体是指具有国家新闻出版管理部门批准的具有国内统一刊号 (CN 号), 由医药卫生科研教育机构、学术团体等主管部门主办的, 以医药卫生专业技术人员、管理人员为主要对象的医药卫生类报刊 (不含面向大众的科普刊物)。

《中草药》杂志欢迎制药企业来函来电刊登广告!