

C> B

表 3 方差分析表

方差来源	离均差平方和	自由度	均方	F值	P
A	4055.426	2	2027.713	20.88	<0.05
B	193.417	2	96.709	0.990	
C	588.020	2	294.010	3.020	
D(误差)	194.806	2	97.403		

$F_{0.05}(2, 2) = 19$ $F_{0.01}(2, 2) = 99$

从表中直观得出的结论是各因素最佳水平为 A₁B₁C₃,但综合试验过程中所出现的问题(5%的乙醇提取液色泽混暗,过滤困难,而 75%的乙醇色泽纯清,过滤容易)和节约资源考虑,以及结合 4号试验的结果分析,认为可选用 A₂B₁C₂,即醇浓度为 75%,醇用量为 4倍,回流次数 4次

2.2.4 工艺验证试验:称取 5份山慈菇药粉,每份 30 g,按正交试验选择的最佳工艺进行提取,将提取液适当处理后进行测定含量,计算秋水仙碱的量,秋

水仙碱的平均含量为 97.39 mg 结果说明,由正交试验筛选的回流工艺条件是可靠的。

3 讨论

3.1 由方法学考察结果可见,采用 HPLC 检测秋水仙碱,精密度高,重现性及线性关系好,故认为本法简便、灵敏、准确,可用于山慈菇中提取物的质控。

3.2 通过与其他提取方法比较,认为选用乙醇回流法提取丽江山慈菇中秋水仙碱较为合适,通过正交试验,对提取工艺进行了筛选。验证试验表明筛选的工艺稳定可靠

参考文献:

- [1] 王盛民,张英.实用中药材鉴别检索手册[M].北京:学苑出版社,1992.
- [2] 《全国中草药汇编》编写组.全国中草药汇编[M].北京:人民卫生出版社,1975.
- [3] 崔树得.中药大全[M].哈尔滨:黑龙江科学技术出版社,1989.
- [4] 姜继祖,叶开润,廖周坤,等.超临界 CO₂流体萃取光菇中秋水仙碱的研究[J].中草药,1997,28(3):147-149.

海狗温肾丸质量标准的研究

索菲娅¹,陈世忠^{2*}

(1.新疆大学 生物系,新疆 乌鲁木齐 830046 2.北京大学药学院 中药研究室,北京 100083)

海狗温肾丸是由海马、狗肾、鹿茸、淫羊藿、人参、补骨脂、肉桂等 11味中药组成,主要用于身体虚弱、精神疲乏、腰腿酸软、肾亏精冷、性欲减退、失眠健忘等症。为了控制该制剂的质量,本实验采用显微鉴别法对海马、鹿茸、人参进行鉴别,利用薄层色谱法对人参、补骨脂、肉桂进行了鉴别,用 HPLC法测定了该制剂中淫羊藿苷的含量^[1-4]。

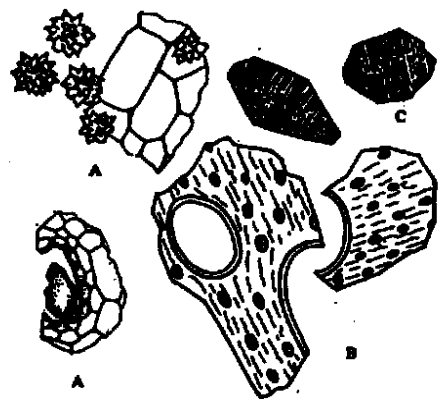
1 仪器与试剂

日本岛津 LC-3A型高效液相色谱仪,SPD-2A型紫外可见波长检测器,精瑞 GS2010型色谱工作站。淫羊藿苷(含量测定用,批号:0737-9910),肉桂醛(供鉴别用,批号:0786-9001)购于中国药品生物制品检定所;补骨脂 *Psoralea corylifolia* L对照药材、人参 *Panax ginseng* C. A. Mey.对照药材均购于北京同仁堂药店。硅胶 G(青岛海洋化工厂);水为重蒸水;其他试剂均为分析纯

2 定性鉴别

2.1 显微鉴别:取本品置显微镜下观察。草酸钙簇晶直径 20~ 68μm,棱角锐尖;树脂道碎片内含黄色

分泌物;网纹及梯纹导管直径 8~ 48μm;其中以草酸钙结晶的特征明显(人参)。未骨化的骨组织淡灰色或近无色,边缘及表面均不整齐,具不规则的块状突起物,其间隐约可见条状纹理(鹿茸)。横纹肌纤维近无色或淡黄色,有细密横纹,横纹平直或微波纹(海马)。见图 1



A-人参 B-鹿茸 C-海马

图 1 海狗温肾丸的显微鉴别

* 收稿日期: 2001-12-27

2.2 薄层色谱鉴别

2.2.1 肉桂: 取本品粉末 2.5 g, 加乙醇 10 mL, 超声提取 30 min, 滤过, 滤液即为供试品溶液。另取肉桂醛对照品, 加乙醇制成 $1 \mu\text{L}/\text{mL}$ 的对照品溶液。取不含肉桂的阴性样品, 同供试品处理方法制备阴性对照液, 照《中华人民共和国药典》薄层色谱法 (附录 VI B) 试验, 吸取供试品溶液和阴性对照液各 $20 \mu\text{L}$, 对照品溶液 $10 \mu\text{L}$, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以苯-醋酸乙酯-冰醋酸 (90: 2.5: 2.5) 为展开剂, 展开, 取出晾干, 喷以 2,4-二硝基苯肼乙醇溶液, 稍稍加热至斑点明显, 见图 2-A

2.2.2 人参: 取本品粉末 2.5 g, 精密称定, 置索氏提取器中, 加氯仿 40 mL, 加热回流 3 h, 弃去氯仿液, 药渣挥去氯仿, 置具塞锥形瓶中, 精密加入水饱和的正丁醇 50 mL, 超声提取 30 min, 滤过, 滤液置蒸发皿中蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 即为供试品溶液。另取人参对照药材 1.0 g, 同法制成对照药材溶液。取不含人参的阴性样品, 同供试品处理方法制备阴性对照液, 照《中华人民共和国药典》薄层色谱法 (附录 VI B) 试验, 吸取供试品溶液和阴性对照液各 $20 \mu\text{L}$, 对照品溶液 $10 \mu\text{L}$, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-醋酸乙酯-甲醇-水 (15: 40: 22: 10) 10°C 以下放置的下层溶液为展开剂, 展开, 取出晾干, 喷以 50% 硫酸甲醇溶液, 在 105°C 加热至斑点显色清晰, 分别置日光及紫外光灯下 (365 nm) 下检视。见图 2-B

2.2.3 补骨脂: 取本品粉末 2.5 g, 加醋酸乙酯 40 mL, 超声处理 15 min, 滤过, 滤液减压回收溶剂至 1 mL, 即为供试品溶液。另取补骨脂对照药材 0.5 g, 按上法操作, 制成对照药材溶液。取不含补骨脂的阴性样品, 同供试品处理方法制备阴性对照液。照《中华人民共和国药典》薄层色谱法 (附录 VI B) 试验, 吸取供试品溶液 $20 \mu\text{L}$, 对照品溶液 $10 \mu\text{L}$, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正丁醇-醋酸乙酯 (8: 2) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 氢氧化钾甲醇溶液, 置紫外光灯 (365 nm) 下检视。见图 2-C

3 淫羊藿苷的含量测定

3.1 色谱条件: 迪马 Diamonsil™ C₁₈ 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈-水 (33: 67), 检测波长: 270 nm, 流速: 1 mL/min, 柱温: 室温, 灵敏度: 0.1 AUFS。理论塔板数按淫羊藿苷计不得少于 3500

3.2 标准曲线的制备: 精密吸取对照品溶液 (80 μg/mL) 2.5, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0 μL, 注入高效液

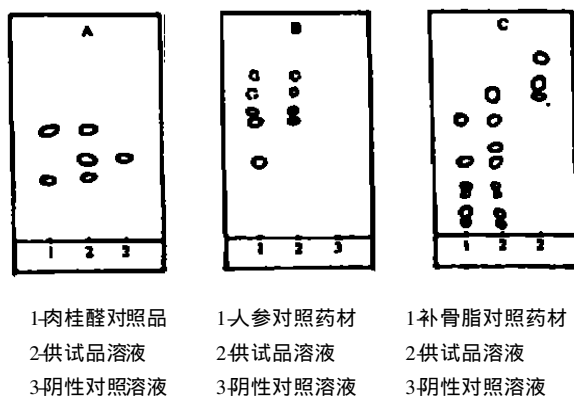
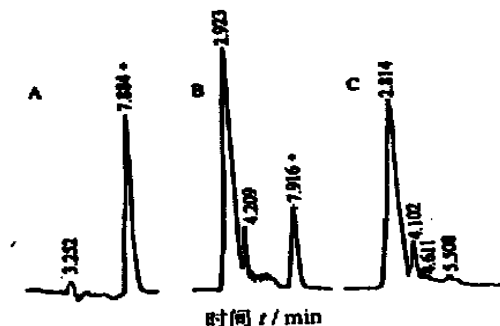


图 2 样品 TLC 图

相色谱仪中, 按上述色谱条件测定峰面积, 以淫羊藿苷的量为纵坐标, 以峰面积为横坐标作图, 回归方程为: $Y = 4 \times 10^{-6} X + 0.0037$, $r = 0.9997$, 线性范围: 0.2~16 μg



A 对照品 B 供试品 C 空白溶液 * 淫羊藿苷

图 3 HPLC 图谱

3.3 空白试验: 按处方配比投入缺淫羊藿的空白样品, 按供试品溶液配制的方法提取, 并按上述色谱条件测定。结果在淫羊藿出峰位置未见其他杂峰的干扰, 说明缺样空白无干扰。

3.4 精密度考察: 精密吸取上述供试品溶液 $20 \mu\text{L}$, 连续进样, 结果峰面积 $RSD = 1.27\%$ ($n = 5$)。

3.5 稳定性考察: 精密吸取上述供试品溶液 $20 \mu\text{L}$, 每隔 1 h 进样 1 次, 共进样 5 次, 测定, 峰面积 $RSD = 1.36\%$ 。

3.6 重现性考察: 精密吸取上述供试品溶液 $20 \mu\text{L}$, 注入高效液相色谱仪中, 每份供试品溶液进样 3 针, 测定 5 份, 测定, 供试品溶液峰面积 $RSD = 0.5\%$ ($n = 5$)。

3.7 加样回收率试验: 称取供试品 20 g, 置研钵中研成细粉, 取 0.5 g 精密称定, 共 6 份, 置锥形瓶中, 其中 5 份供试品中分别加入 0.5 mL 加样溶液, 置水浴上挥去溶剂, 另 1 份为空白。按样品处理方法测定, 结果平均加样回收率为 98.46%, $RSD = 3.15\%$ 。

3.8 样品中淫羊藿苷含量的测定:称取供试品 10 g,置研钵中研成细粉,取 1.5 g精密称定,置锥形瓶中,加入甲醇 30 mL,称定质量,静置过夜,然后超声 30 min,放冷后称重,加甲醇补足质量,滤过,取续滤液 15 mL,置水浴上蒸干,残渣加流动相溶解并定容于 5 mL量瓶中,微孔滤膜(0.45 μ m)滤过。精密吸取供试品溶液各 20 μ L,进样,测定结果见表 1

表 1 海狗温肾丸中淫羊藿苷的含量(n= 3)

批 号	淫羊藿苷含量 (mg /g)
000207	0.299
000212	0.679
000216	0.882

4 讨论

4.1 海狗温肾丸为复方制剂,其中海马、鹿茸、人参以原药材粉碎入药,其他药物以浸膏入药,在鉴别方面,由于海马、鹿茸缺乏特征性的 TLC鉴别方法,且是贵重药材,故鉴别采用粉末显微的方法进行鉴别,其鉴别特征明显,具有特征性

4.2 人参的鉴别采用了显微鉴别和 TLC结合的方法,其原因是近年来市场上常有使用提取过的人参入药和使用人参茎叶总皂苷入药,使用显微鉴别和

TLC结合的方法可以避免上述现象的出现

4.3 淫羊藿是方中主药,淫羊藿苷是淫羊藿的活性成分之一,有关淫羊藿苷的含量测定,文献^[5,6]中记载的有高效液相色谱法、薄层扫描法等,其中以高效液相色谱法较多。经流动相的选择,最终选用乙腈-水(33∶67)为流动相,分离效果较佳,淫羊藿苷与其他杂质峰达到基线分离,理论塔板数达到 3 500 以上。

4.4 经方法学研究结果表明,本方法简便、准确、特征性强、重复性好、空白无干扰,可作为海狗温肾丸质量控制的方法。

参考文献:

[1] 阴健,郭力弓.中药现代研究与临床应用I [M].北京:学苑出版社,1993.
[2] 中国药典[S].1995年版.一部.
[3] 阴健.中药现代研究与临床应用II [M].北京:中医古籍出版社,1995.
[4] 阴健.中药现代研究与临床应用III [M].北京:中医古籍出版社,1997.
[5] 朱炳辉,梁艺英,莫金垣.安神补脑液中淫羊藿苷含量的高效液相色谱法测定[J].中国实验方剂学杂志,1999,5(6): 8-10.
[6] 李章万,刘三康,钱广生,等.四种含淫羊藿中成药中淫羊藿苷的含量测定[J].华西医科大学学报,1995,26(1): 66-69.

HPLC法测定双胆片中猪去氧胆酸含量

林 喆¹,肖学风²,邱智东¹,王 凯¹,董金香^{1*}

(1. 长春中医学院 中药系,吉林 长春 130021; 2. 天津中医学院 中药系,天津 300193)

双胆片是本院研制的口服治疗湿热酒毒内蕴所致的酒精性肝炎的一种新药。方中猪胆汁膏为主要药物,其有效成分为猪去氧胆酸。猪去氧胆酸测定方法已有薄层扫描法^[1,2]的报道。本实验采用 HPLC法测定双胆片中猪去氧胆酸的含量,为该制剂的质量控制提供了准确、快捷的测定方法。

1 仪器与试剂

高效液相色谱仪(日本岛津),LC-10AD泵,示差折光检测器,DL-800色谱工作站(大连化物所);猪去氧胆酸对照品由中国药品生物制品检定所提供,经高效液相色谱法归一化纯度为 100%;猪胆汁膏经长春中医学院中药系中药鉴定教研室姜大成教授鉴定为猪科动物猪 *Sus scrofa domestica* Brisson 的胆汁的干燥品。甲醇为优级纯,其他均为分析纯

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱:YW G LC18(4.6 mm $\times$ 250 mm, 10 μ m),流动相:甲醇-水(80∶20),流速:1.0 mL/min,柱温:16 $^{\circ}$ C。

2.2 标准曲线的制备:精密称取猪去氧胆酸对照品 16.00 mg,置容量瓶中,加甲醇定容,摇匀,配制成 5.00 mg/mL的对照品溶液。精密吸取上述对照品溶液 2, 5, 10, 15, 30 μ L,分别注入液相色谱仪,依法测定,以测得峰面积值(Y)为纵坐标,猪去氧胆酸对照品的进样量(X)为横坐标作图,得回归方程为 $Y= 10\,533+ 2\,886\,388.272X, r= 0.999\,6$ 在 10~100 μ g 范围内线性关系良好。

2.3 供试品溶液的制备:分别取双胆片适量,研细,精密称取 4.5 g,置索氏提取器中,加乙醇 100 mL

* 收稿日期: 2001-10-31