

对于交换效果的好坏起着决定性的作用。普通的凝胶离子交换树脂缺点较多,尤其是在交换较大离子或分子时,如果上柱和洗脱条件相差较大时,其孔道结构发生改变,使较大的物质卡在结构内;而大孔树脂具有微孔永存,表面积大,交换速度快等优点。因此,D001型磺酸型大孔阳离子交换树脂更有利于生物碱由树脂上被洗脱下来。

3.2 pH值是影响苦豆子生物碱在离子交换树脂上吸附效果的关键因素,pH < 1.0时,上柱液中的生物碱多以正离子态存在,容易与树脂上的磺酸基团结合,从而提高了生物碱吸附率。

3.3 由于使用碱性洗脱剂洗脱树脂上的生物碱,而在碱性环境下,生物碱多以游离态的形式存在,降低

了生物碱在水溶液中的溶解性,最终影响了离子交换树脂的洗脱效果。因此本实验将乙醇作为助溶剂,以提高生物碱的在洗脱剂中的溶解度,使洗脱效果得到很大的改善。

参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1997.
- [2] 张兰珍, 李家实, 皮特·豪佛顿, 等. 苦豆子种子生物碱成分研究 [J]. 中国中药杂志, 1997, 22(12): 740-743.
- [3] 肖崇厚. 中药化学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1997.
- [4] 张建华, 乌云. 苦豆子中生物碱含量测定方法新探 [J]. 中草药, 1997, 28(8): 465-467.
- [5] 钱廷宝. 离子交换剂应用技术 [M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1984.
- [6] Swarbrick J, Boylan J C. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology [M]. Vol 8. New York & Basel: Marcel Dekker, INC, 1993.

水飞蓟宾葡甲胺质量标准研究

陈黎, 周继勇*

(镇江市药品检验所, 江苏 镇江 212003)

水飞蓟宾葡甲胺为水飞蓟与葡甲胺的加合物。水飞蓟是从菊科植物水飞蓟 *Silybum marianum* Gaertn. 果实中提取分离而得到的羟苯基色满酮体。水飞蓟宾葡甲胺属水飞蓟的水溶性衍生物, 具有保护及稳定肝细胞膜的作用, 并能促进肝细胞再生, 主要用于治疗各种急慢性肝炎、初期肝硬化和肝中毒等症。为了全面控制水飞蓟宾葡甲胺的质量, 本实验以水飞蓟宾为定性指标进行紫外特征吸收的鉴别, 以葡甲胺为定性指标进行理化鉴别, 同时以水飞蓟宾葡甲胺为定量指标用 HPLC 法进行含量测定。

1 仪器与试药

高效液相色谱仪: 岛津 LC-6A 泵, SPD-6AV 紫外-可见检测器, C-R6A 数据处理器; 日本岛津 UV-265FW 紫外-可见分光光度计; 日本岛津 UV-2401PC 紫外-可见分光光度计; KQ-250E 医用超声波处理器 (江苏昆山市超声波仪器厂)。

水飞蓟宾葡甲胺由镇江第三制药厂提供; 水飞蓟宾对照品由中国药品生物制品检定所提供, 批号: 0856-9601; 甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。

2 鉴别试验

2.1 葡甲胺的鉴别: 取本品 0.2 g, 加水 20 mL, 超

声处理 10 min, 加稀盐酸 5 滴, 振摇 2 min, 滤过, 取滤液 1 mL, 加 FeCl₃ 试液 0.5 mL, 滴加 20% NaOH 溶液 2 mL, 初显棕红色沉淀, 随即溶解成棕红色溶液。同时进行背景试验, 即取水 1 mL 为空白, 同法操作。所显棕红色沉淀, 继续滴加 20% NaOH 溶液, 沉淀不溶解。故可借此鉴别葡甲胺的存在。

2.2 水飞蓟宾的紫外特征吸收鉴别: 取本品适量, 加无水乙醇制成 15 μg/mL 的溶液, 照分光光度法 (《中华人民共和国药典》2000 年版二部附录 IV A) 测定, 在 288 nm 波长处有最大吸收, 252 nm 波长处有最小吸收, 与文献相同^[1], 故以此为特征吸收鉴别 (图 1)。

3 含量测定

3.1 色谱条件: 色谱柱: Shim-pack CLC-ODS 柱 (6 mm × 150 mm); 流动相: 甲醇-水 (0.5 mol/L KH₂PO₄ (10⁻¹: 10⁻¹: 1, 用 0.2 mol/L H₃PO₄ 调 pH 值至 4.0); 流速: 1.5 mL/min; 柱温: 室温; 检测波长: 288 nm。理论板数以水飞蓟宾计为 5641, 相邻峰分离度为 1.74。见图 2。

3.2 供试品溶液的制备: 取本品 15 mg, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇适量, 超声处理 20 min, 放冷, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 5 mL, 置 25

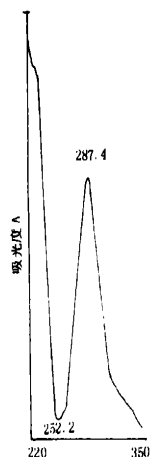


图 1 水飞蓟宾
葡甲胺甲
醇溶液的
紫外吸收
扫描图谱

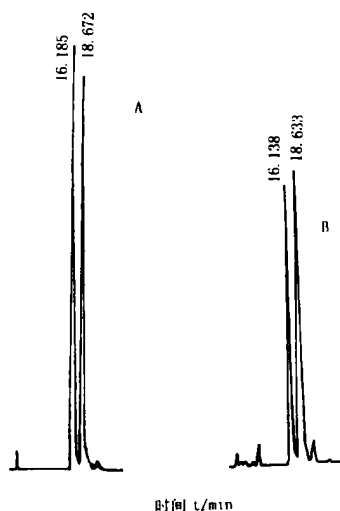


图 2 水飞蓟宾对照品甲醇溶液 (A) 和水飞蓟
葡甲胺供试品甲醇溶液 (B) 的 HPLC 图谱

好的线性关系。

3.5 精密度试验: 取同一浓度的对照品溶液 20 μ L, 注入色谱仪, 重复进样测定 5 次, 结果水飞蓟宾峰面积的 RSD 为 0.62%。

3.6 重现性试验: 精密称取同一批号的样品 5 份, 分别处理测定, 结果所测得为水飞蓟宾葡甲胺含量 RSD 为 1.73%。

3.7 稳定性试验: 在室温放置 2, 5, 8, 24 h, 分别取样进行测定, 水飞蓟宾葡甲胺含量 RSD 为 1.1%, 表明具有良好的稳定性。

3.8 样品测定: 取 5 批水飞蓟宾葡甲胺, 照 3.2 项

mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液。

3.3 对照品溶液的制备: 取 105 $^{\circ}$ C 干燥至恒重的水飞蓟宾对照品约 10 mg, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇适量, 超声处理 20 min, 放冷, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。

3.4 标准曲线的制备: 精密称取水飞蓟宾对照品, 加甲醇配成不同浓度的溶液, 分别取 20 μ L 注入色谱仪, 测定峰面积。以对照品量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 计算得回归方程为 $Y = 47\,332X - 230\,359$, $r = 0.999\,2$ 。结果表明, 水飞蓟宾在 7.46~289.4 μ g/mL 呈良

下操作, 精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 20 μ L, 注入液相色谱仪, 测定, 计算, 并与 1.405 相乘, 即得 (表 1)。根据测定结果, 拟定水飞蓟宾葡甲胺的含量不低于 0.75 g/g。

表 1 水飞蓟宾葡甲胺的测定结果

批号	水飞蓟宾葡甲胺 (g/g)
20010509	0.846
20010510	0.852
20010702	0.764
20010402	0.778
20000201	0.772

4 讨论

4.1 葡甲胺鉴别的酸性条件的选择: 水飞蓟宾葡甲胺为水飞蓟宾和葡甲胺的加成物。因葡甲胺与水飞蓟宾结合成盐, 文献^[2]进行葡甲胺的理化鉴别时, 反应不明显。现适当给予酸性环境, 使葡甲胺游离, 用滤液进行鉴别, 可使反应灵敏。注意稀盐酸不能多加, 否则滴加 20% NaOH 反应迟缓。

4.2 HPLC 法流动相的选择: 流动相 I: 甲醇-水-冰醋酸 (40: 60: 5), 流动相 II: 甲醇-乙腈-水-冰醋酸 (20: 15: 65: 5, 三乙胺调 pH 至 3.0), 流动相 III: 甲醇-水-0.5 mol/L KH_2PO_4 (10: 10: 1, 用 0.2 mol/L H_3PO_4 调 pH 至 4.0), 结果 I 分离度较差, 水飞蓟宾的两个同分异构体呈双头峰, II、III 分离效果比较接近, III 较 II 条件相对缓和, 酸度适中, 故采用 III^[2]。

4.3 关于含量限度的问题: 水飞蓟宾系从水飞蓟植物果实中提取分离而得, 含有水飞蓟亭、水飞蓟宁、水飞蓟宾、异水飞蓟宾等, 以水飞蓟宾为主要成分。文献^[4]采用紫外分光光度法测定含量, 反映的是本品在 288 nm 处总的吸收情况, 故含量测定结果较高。HPLC 法则将相关成分作了极好的分离, 并以其中药理活性最强的水飞蓟宾为指标, 故含量限度定为 0.75 g/g。这比文献方法更为准确可靠, 更能真实反映其内在质量。

4.4 采用 HPLC 法测定水飞蓟宾葡甲胺的含量, 不仅有效成分得到了完全分离, 而且方法学研究表明其准确度高, 灵敏度和线性关系均符合含量测定的要求, 完全可以作为水飞蓟宾葡甲胺的含量测定方法。

参考文献:

- [1] WS-009(X-005)-2001, 水飞蓟宾 [S].
- [2] 定天明, 田颂九, 张正行. 水飞蓟素制剂中有效成分的 HPLC 分离测定 [J]. 药物分析杂志, 1999, 19(5): 304-307.
- [3] 刘本亮, 杨锡. 薄层扫描法测定益肝灵胶囊中水飞蓟素的含量 [J]. 中成药, 1999, 21(4): 180-181.
- [4] 苏卫药刘字 (83) 第 70 号, 水飞蓟宾葡甲胺 (西利宾胺) [S].