

益肾降压颗粒质量标准的研究

何 伟¹, 容 蓉¹, 肖 振良^{2*}

(1. 山东中医药大学中药学院, 山东 济南 250014; 2. 山东中医药大学附属医院, 山东 济南 250014)

益肾降压颗粒由桑寄生、淫羊藿、葛根、丹参等药物组成, 具有滋补阴阳、活血通脉、清心宁神的功效, 用于肾虚血瘀、心神不宁之高血压病患者。为控制本品的质量, 本研究对方中的桑寄生、葛根、丹参进行了薄层色谱定性鉴别, 并采用 RP-HPLC 法测定了方中淫羊藿苷的含量。

1 仪器、试药与样品

贝克曼高效液相色谱仪 (110B 泵, 420 控制器, 163 可变波长检测器), HP 5890II 积分仪 (美国)。

淫羊藿苷、葛根素、原儿茶醛、槲皮素 (中国药品生物制品检定所); 硅胶 G、硅胶 H (青岛海洋化工厂); 聚酰胺 (60~80 目, 湖南醴县一中试剂厂); 乙腈 (色谱纯, 天津四友生物试剂有限公司); 其余试剂均为分析纯。

益肾降压颗粒 (山东中医药大学附属医院制剂室生产, 批号: 980415, 980416, 980417)。

2 薄层色谱鉴别

2.1 桑寄生^[1]: 取本品 3 g 研细, 加甲醇-水 (1:1) 60 mL, 超声处理 20 min, 滤过, 滤液浓缩至约 20 mL, 加水 10 mL 稀释, 加 10% 硫酸 0.5 mL, 水浴回流 1 h, 放冷, 移至分液漏斗中, 用醋酸乙酯提取 2 次 (30 mL×2), 合并醋酸乙酯液, 水浴蒸干, 残渣加醋酸乙酯 5 mL 使溶解, 作为供试品溶液。按处方比例称取除桑寄生外各药材, 按工艺提取、制备, 同法制成缺桑寄生空白对照液。另取桑寄生药材粉末 3 g, 同法制成对照药材溶液。取槲皮素对照品, 加醋酸乙酯制成 0.5 mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。吸取上述溶液各 4 μL, 对照品溶液 2 μL, 分别点于同一高效硅胶 G 薄层板上, 以甲苯 (水饱和)-醋酸乙酯-甲酸 (5:4:1) 为展开剂, 喷以 5% 三氯化铝乙醇溶液, 置紫外光灯 (365 nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上显相同的黄色荧光斑点, 空白无干扰 (图 1)。

2.2 丹参^[2]: 取本品 2 g 研细, 加 70% 乙醇 50 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液水浴蒸至无醇味, 加水

10 mL 稀释, 加氯化钠至饱和, 乙醚提取 4 次 (15 mL×2, 10 mL×2), 合并乙醚液, 挥去乙醚, 残渣加乙醇 2 mL 使溶解, 作为供试品溶液。按处方比例称取除丹参外各药材, 按工艺提取、制备, 同法制成缺丹参空白对照液。另取原儿茶醛对照品加乙醇制成 0.5 mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。吸取上述溶液各 6 μL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-丙酮-甲酸 (8:1:1) 为展开剂, 喷以 2% 三氯化铁乙醇溶液显色。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应位置上显相同污绿色斑点, 且空白无干扰 (图 1)。

2.3 葛根^[1]: 取本品 1 g 研细, 加 70% 乙醇浸泡 15 min, 超声处理 20 min, 滤过, 滤液水浴蒸发至约 5 mL, 与 0.5 g 聚酰胺拌匀, 水浴蒸干, 置已处理好的聚酰胺柱 (60~80 目, 3 g, 柱内径 1.5 cm, 湿法上柱) 中, 先用蒸馏水洗至流出液无色, 再以 70% 乙醇洗脱至无色, 收集乙醇洗脱液, 水浴蒸至无醇味, 放冷, 用盐酸溶液调 pH 值至 2, 移至分液漏斗中。以醋酸乙酯提取 2 次 (15, 10 mL), 合并醋酸乙酯液, 水浴蒸干, 残渣加 70% 乙醇 2 mL 使溶解, 作为供试品溶液。按处方比例称取除葛根外各药材, 按工艺提取、制备, 同法制成缺葛根空白对照液。另取葛根素对照品加甲醇制成 1 mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。吸取上述溶液各 6 μL 分别点于同一硅胶 H 薄层板上, 以氯仿-甲醇-水 (8:3.5:1) 下层溶液为展开剂, 展开、取出、晾干, 置氨气中熏后, 于紫外光灯 (365 nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同的亮蓝色荧光斑点, 空白无干扰 (图 1)。

3 淫羊藿苷含量测定

3.1 色谱条件^[1]: 色谱柱: Kromasil C₁₈ (200 mm×4.6 mm, 5 μm, 中国科学院大连化学物理研究所); 流动相: 乙腈-水 (24:76); 流速: 1 mL/min; 检测波长: 270 nm; 灵敏度: 1.0 AUFS; 进样量: 20 μL。淫羊藿苷与杂质峰分离度大于 1.5, 色谱柱理论塔板数按淫羊藿苷计应大于 1 500。色谱图见图 2。

* 收稿日期: 2002-02-04

作者简介: 何 伟 (1955-), 女, 北京市人, 副教授, 硕士生导师, 从事中药药剂的教学与科研工作。

Tel (0531) 2614731 E-mail jun5512@sdu.edu.cn

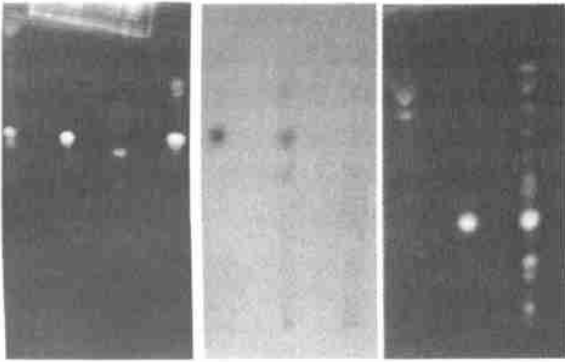


图 1 桑寄生 (A)、丹参 (B)和葛根 (C)的薄层色谱图

1 供试品 1-原儿茶醛 1 空白对照
2 槲皮素对照品 2 供试品 2 葛根素
3 空白对照 3 空白对照 3 供试品
4 桑寄生 1-protocatechuic 1-sample without
1-sample aldehyde Radix Puerariae
2-quercetin 2-sample 2-puerarin
3-sample without 3-sample
Herba Taxilli Radix Salviae
4-Herba Taxilli Miltiorrhizae

Fig. 1 TLC chromatograms to identify *Herba Taxilli* (A), *Radix Salviae Miltiorrhizae* (B) and *Radix Puerariae* (C)

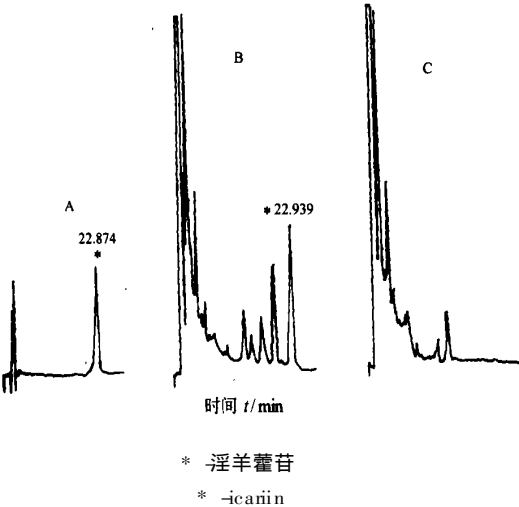


图 2 对照品 (A)、供试品 (B)和阴性对照 (C)的色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of icariin (A), sample (B) and sample without *Herba Epimedii* (C)

3.2 线性关系考察:精密称取淫羊藿苷对照品 10.76 mg,置 10 mL 量瓶中,加 70% 乙醇稀释至刻度,摇匀,分别精密量取 20, 30, 40, 50, 60, 70 μ L,置 1 mL 量瓶中,加 70% 乙醇稀释至刻度,摇匀。按上述色谱条件测定淫羊藿苷色谱峰面积,以淫羊藿苷的量为横坐标,峰面积积分值为纵坐标,计算回归方

程 $Y = 175.68X - 1273.44$, $r = 0.9997$ 结果表明淫羊藿苷在 0.430 4~ 1.721 6 μ g 线性关系良好。

3.3 供试品溶液的制备:将本品研细,取约 0.3 g,精密称定,加 70% 乙醇 100 mL,超声分散 2 min,加热回流提取 1 h,滤过,用 70% 乙醇少量洗涤容器和滤渣,洗液与提取液合并,水浴蒸干,残渣加水 5 mL 使溶解,置已处理好的聚酰胺柱 (60~ 80 目,2.5 g,柱内径约 1.5 cm,湿法上柱)中,先以水 40 mL 洗至流出液无色,弃去,再以 90% 乙醇 150 mL 洗脱,收集醇洗脱液,水浴蒸干,残渣加 70% 乙醇使溶解,并定容至 10 mL,以 0.5 μ m 微孔滤膜滤过,即得。

精密称取淫羊藿苷对照品,加 70% 乙醇制成 40.3 μ g/mL 的溶液,作为对照品溶液。

3.4 空白试验:按处方中药味比例自制不含淫羊藿的颗粒,制成空白溶液,按样品方法测定,结果在与对照品溶液相同保留时间无吸收峰,空白无干扰。

3.5 精密度试验:吸取供试品溶液,重复进样,求得淫羊藿苷峰面积 $RSD = 0.9\%$ ($n = 6$)。

3.6 稳定性试验:吸取供试品溶液,每隔 2.5 h 进样一次,测定淫羊藿苷色谱峰面积,结果表明,峰面积积分值在 12.5 h 内基本稳定, $RSD = 1.28\%$ ($n = 6$)。

3.7 回收率试验:采用加样回收法。取已测知淫羊藿苷含量的同一批样品 (批号 980416),分别精密加入一定量的淫羊藿苷对照品乙醇溶液,依法测定,结果平均回收率为 98.24%, $RSD = 1.93\%$ ($n = 5$)。

3.8 重现性试验:取本品 (批号 980416) 5 份,精密称定,制备供试品溶液,依法测定,淫羊藿苷平均含量为 1.94 mg/g, $RSD = 2.3\%$ ($n = 5$)。

3.9 样品测定结果:取益肾降压颗粒 (批号 980415, 980416, 980417),依法测定淫羊藿苷含量,结果见表 1。

表 1 益肾降压颗粒中淫羊藿苷含量测定结果 ($n = 5$)

批号	淫羊藿苷含量 / (mg $\cdot$ g $^{-1}$)	RSD %
980415	1.89	3.5
980416	1.94	2.3
980417	2.02	0.9

由以上结果,暂定本品含淫羊藿苷 ($C_{33}H_{40}O_{15}$) 计不得低于 1.70 mg/g。

4 讨论

4.1 桑寄生主要有效成分为槲皮素和扁蓄苷,但其他中药品种含该成分,若仅以槲皮素为对照品,专属性较差,因此在薄层色谱鉴别中增加了药材对照。

4.2 葛根素为异黄酮类化合物,经聚酰胺色谱柱分离,去除了多数干扰成分,但醇洗脱液中的小檗碱仍干扰葛根素薄层色谱分析,加入盐酸溶液,使小檗碱形成盐酸盐,用醋酸乙酯将葛根素提出,制成供试品液。进行薄层色谱分离,色谱斑点圆整、清晰,分离效果理想。

4.3 淫羊藿苷的含量测定中,本品若以 70%乙醇提取后直接进行 HPLC 含量测定,则供试品液对液相色谱柱污染严重。本实验中对供试液采用聚酰胺

柱预处理,水洗液中未检出淫羊藿苷;再用 90%乙醇洗脱,对醇洗脱液进行 HPLC 测定,以乙腈-水 (24∶76)为流动相,淫羊藿苷能与其他干扰成分实现基线分离

References

[1] Ch P (中国药典) [S]. 2000 ed. VolI .

[2] Lü W Q, Long X H. *Identification of Traditional Chinese Medicinal Materials in Chinese Patent Medicine by Thin Layer Chromatography* (中成药中的药材薄层色谱鉴别) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1997.

痛经平胶囊的质量标准研究

李 彤¹,赵志军², 里玉³,杨彩琴³,王 静³,姚子华^{1*}

(1. 河北大学化学与环境科学学院,河北 保定 071002; 2. 河北省药品检验所,河北 石家庄 050011; 3. 河北医科大学,河北 石家庄 050017)

痛经平胶囊由当归、赤芍、元胡等 8味中药经提取加工而制成,具有止痛化瘀之功效,主治痛经、月经不调等症。为了控制该制剂的质量,本实验采用薄层色谱法对制剂中当归、赤芍、元胡进行了定性鉴别,并采用 HPLC法对该制剂中的主要成分阿魏酸进行了含量测定,结果满意。

1 仪器与试剂

LC-480高效液相色谱仪 (美国 PE公司);阿魏酸、芍药苷、延胡索乙素对照品 (中国药品生物制品检定所);甲醇为色谱纯,水为重蒸水,其余试剂均为分析纯;痛经平胶囊 (河北医科大学药学院提供)。

2 定性鉴别

2.1 赤芍的鉴别^[1]:取本品内容物 4 g,加乙醚 70 mL,索氏提取器回流 1 h,弃去乙醚液,药渣挥干溶剂,加甲醇 100 mL,回流提取 1.5 h,提取液回收至干。残渣加水 10 mL溶解,过滤,滤液以 2 mL/min 的流速通过已处理好的 D-101大孔树脂柱,用水 500 mL洗涤,继以用 70%乙醇洗脱。弃去初滤液 10 mL,收集续滤液 100 mL置水浴上蒸干,残渣加甲醇,定容于 5 mL量瓶中,摇匀,作为供试品溶液。另取缺味配制的模拟制剂,同法制备,得阴性对照溶液。取芍药苷对照品,加甲醇制成 1 mg/mL的对照品溶液。吸取上述溶液各 5 μ L分别点于同一以羟甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G薄层板上,以氯仿-醋酸乙酯-甲醇-异丙醇-甲酸 (30∶15∶10∶2∶

0.2)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5%香草醛硫酸溶液,热风吹至斑点显色清晰。供试品色谱中在与对照品色谱相应的位置上显相同的蓝紫色斑点,阴性对照无此特征斑点 (图 1-A)。

2.2 元胡的鉴别^[2]:取本品内容物 1 g,加浓氨水湿润,加乙醚 20 mL密闭,室温避光冷浸 24 h。吸取上清液 10 mL用 10%醋酸萃取 3次,每次 8 mL,合并酸萃取液,用浓氨水调 pH 10~11。再用氯仿萃取 3次,每次 15 mL,合并氯仿液,水洗至中性,用无水硫酸钠脱水后水浴蒸去溶剂,室温放冷,置干燥器中敞口放置 12 h,精确加入 0.5 mL甲醇溶解,制得供试品溶液。另取缺味配制的模拟制剂,同法制备,得阴性对照溶液。取延胡索乙素对照品及中性硫酸盐适量,加甲醇制成 1 mg/mL延胡索乙素的溶液作为对照品溶液。吸取上述溶液各 5 μ L分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G薄层板上,以石油醚-醋酸乙酯 (2∶1.7)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以改良碘化铋钾溶液,供试液色谱中在与对照品色谱相应的位置上显相同的橙红色斑点,阴性对照无此特征斑点 (图 1-B)。

2.3 当归的鉴别^[3]:取本品内容物 2 g于索氏提取器中,加 100 mL乙酸乙酯-甲醇混合液 (9.5∶0.5)连续提取 4 h,提取液回收至干,加适量甲醇溶解。过滤,定容于 10 mL容量瓶中,制得供试品溶液。另取缺味配制的模拟制剂,同法制备,得阴性对照溶

* 收稿日期: 2002-06-14