

阿胶远志膏的质量标准研究

刘 霞,倪 艳,郝旭亮,王瑞明,李先荣*

(山西省中医药研究院,山西 太原 030012)

阿胶远志膏由地黄、麦冬、远志等 10 余味中药研制而成,具有滋阴补血与养心安神之功效,既能治阴血少,营液不足,心神不宁之本,又治虚烦少寐,精神恍惚,夜寐多梦、健忘失眠、头晕、头疼心悸之标。为了控制质量,本实验采用 TLC 法对远志、麦冬、丹参、当归药味进行定性鉴别,并采用 HPLC 法测定了阿胶远志膏中梓醇的含量,方法简便,获得了满意的结果。

1 仪器与试剂

美国 HP1100 高效液相色谱仪,包括 HPG1322A 真空脱气泵,HPG1311A 四元泵,HPG1313A ALS 自动进样器,HPG1315DAD 二极管阵列检测器。HP Chemstation System 化学工作站;电子天平(德国赛多利斯 BP211D)。乙腈为色谱纯,水为重蒸馏水,其他化学试剂为分析纯。大孔吸附树脂 ZTC-1(吸附皂苷型,天津南开大学正天成澄清有限公司)。梓醇对照品(批号:0808-9803)和各对照药材购自中国药品生物制品检定所。阿胶远志膏由山西省榆社阿胶厂提供。

2 薄层鉴别

2.1 远志的鉴别:取本品 5 g,加等量的硅藻土研匀,干燥,加甲醇 50 mL,超声处理 15 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 50 mL 使溶解,用 15% 甲醇-氯仿溶液振摇提取 2 次,每次 30 mL,弃去氯仿层,母液用水饱和的正丁醇振摇提取 3 次,每次 20 mL,合并正丁醇液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取远志对照药材 0.2 g,加水 50 mL 煎煮 2 次,每次 0.5 h,合并煎煮液,浓缩至 10 mL,同法制备对照药材溶液。取缺远志阴性样品 5 g,同法制备阴性对照溶液。分别吸取 3 种溶液各 5 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正丁醇-冰醋酸-水(5:1:4)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇试液,热风吹干至斑点清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照在相应位置上无干扰(图 1-A)。

2.2 丹参的鉴别:取丹参素钠对照品,加甲醇制成 1 mg/mL 溶液,作为对照品溶液。取缺丹参阴性样品 5 g,同法制成阴性对照溶液。分别吸取 2.1 项下供试品溶液和上述两种溶液各 5 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-丙酮-甲酸(25:10:4)为展开剂,展开,取出,晾干,用氨蒸气熏后,放置过夜,在紫外光灯(365 nm)下检视,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照在相应位置上无干扰(图 1-B)。

2.3 麦冬的鉴别:取 2.1 项下供试品溶液,蒸干,加盐酸溶液(9 $\rightarrow$ 50 mL) 50 mL,置沸水浴中水解 1 h,放至室温后,用氯仿振摇提取 3 次,每次 20 mL,合并氯仿液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取麦冬对照药材 0.3 g 煎煮 2 次,每次 0.5 h,合并煎煮液,按供试品溶液的制备方法制得对照药材溶液。取阴性样品 5 g,同法制备阴性对照溶液。分别吸取以上 3 种溶液各 10 μ L,点于同一硅胶 G 的薄层板上,用甲苯-醋酸乙酯-甲酸(14:4:0.5)为展开剂,展开,取出、晾干,在紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性对照在相应位置上无干扰(图 1-C)。

2.4 当归的鉴别:取样品 15 g,加水 150 mL 摇匀,用 2 mol/L 盐酸调 pH 1~2,用乙醚振摇提取 3 次,每次 30 mL(乳化时加少许甲醇),合并乙醚液,挥干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取 0.7 g 当归药材,加水 50 mL 煎煮 2 次,每次 0.5 h,合并煎煮液,同法制备对照药材溶液。取缺当归阴性样品 15 g,同法制备阴性对照溶液。分别吸取以上 3 种溶液各 15 μ L,点于同一硅胶 G 的薄层板上,用甲苯-醋酸乙酯-甲酸(14:4:0.5)为展开剂,展开,取出、晾干,喷以 9% 三氯化铁溶液,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,显相同颜色的斑点,阴性对照在相应位置上无干扰(图 1-D)。

* 收稿日期:2003-04-12

作者简介:刘 霞(1965—),女,山西省闻喜人,副主任药师,1988 年毕业于沈阳药学院,从事中药新药的开发研究。Tel: (0351)4168040

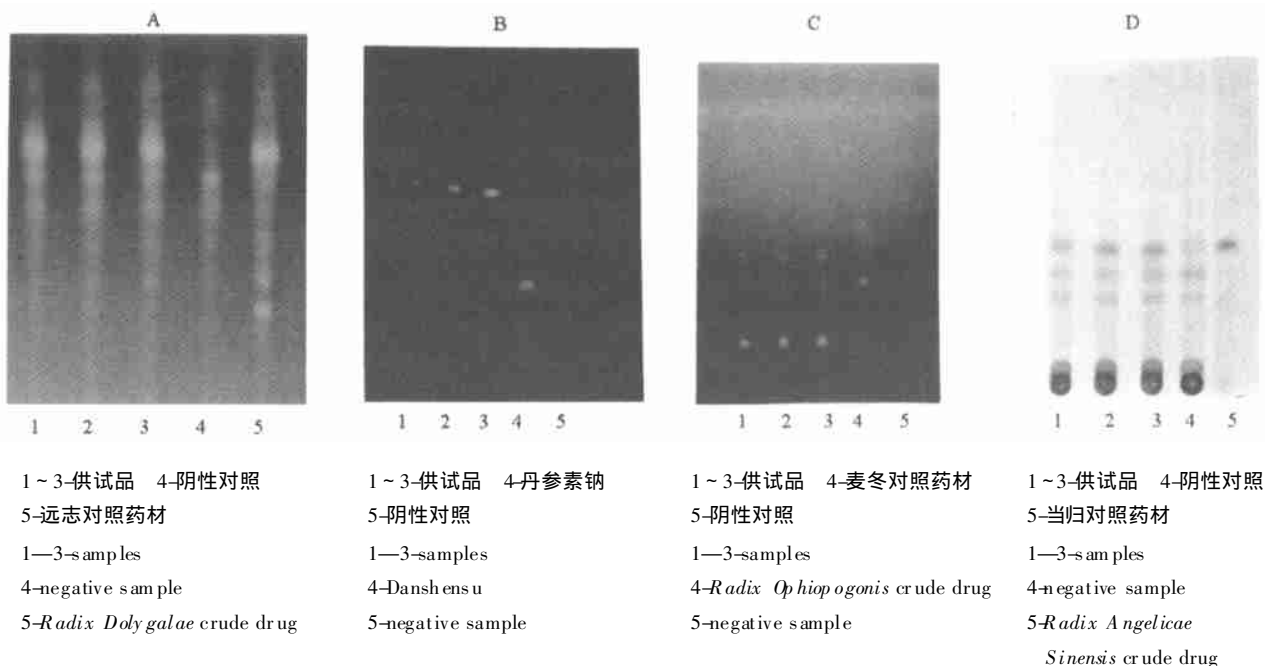


图 1 远志 (A)、丹参(B)、麦冬(C) 和当归(D) 的 TLC 图谱

Fig. 1 TLC chromatograms of *Radix Polygalae* (A), *Radix Salviae Miltiorrhizae* (B), *Radix Ophiopogonis* (C), and *Radix Angelicae Sinensis* (D)

3 含量测定

3.1 色谱条件: 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂 (4.6 mm × 250 mm); 柱温: 室温; 流动相: 水-乙腈 (98.5 : 1.5); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 204 nm。理论塔板数按梓醇峰计算可达 4 000 以上, 不低于 2 000。

3.2 对照品溶液的制备: 精密称定梓醇对照品 1.39 mg, 加水制成 0.139 mg/mL 的溶液, 即得。

3.3 供试品溶液的制备: 取本品约 2.5 g, 精密称定。加水 5 mL 使溶解, 加在已处理好的大孔吸附树脂柱 (40 g, 2.5 cm × 20 cm) 上, 先用 200 mL 水洗

涤, 弃去, 再用 200 mL 20% 甲醇洗脱, 收集洗脱液 (弃去前 20 mL), 减压浓缩至干, 残渣用水溶解后转移至 10 mL 量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 即得。

3.4 阴性对照溶液的制备: 按处方量称取除地黄外阴性样品 2.5 g, 同法制得阴性对照溶液。

3.5 空白试验: 照上述色谱条件, 吸取供试品溶液、对照品溶液、阴性对照溶液、水各 10 μL, 分别注入色谱仪。供试品溶液色谱中, 在与对照品色谱相应位置上, 有一相同的色谱峰, 阴性对照液、水在此保留时间无干扰 (图 2)。

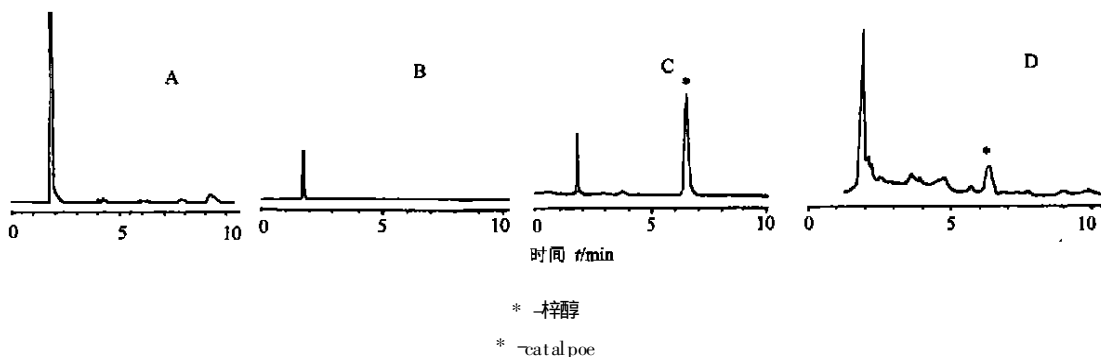


图 2 阴性对照 (A)、溶剂(B)、梓醇对照品(C) 和样品(D) 的 HPLC 图谱

Fig. 2 HPLC chromatograms of blank control (A), solvent (B), catalpol (C), and sample (D)

3.6 线性关系的考察: 分别精密吸取 2.5, 5, 10, 15, 20, 25 μL 对照品溶液, 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 得回归方程: $Y = 696.02237X + 2.5576$,

$r = 0.9999$ 。结果表明, 梓醇在 0.3475 ~ 3.4750 μg 时与峰面积有良好的线性关系。

3.7 精密度试验: 精密吸取对照品溶液 10 μL, 按

上述色谱条件重复进样 5 次,测定峰面积,结果 RSD= 0.15%,表明精密度良好。

3.8 重现性试验:取本品 2.5 g 共 5 份,精密称定,同法测定。梓醇含量为 0.495 mg/g, RSD= 2.07%。

3.9 回收率试验:精密称取已知含量的样品,精密加入梓醇对照品,按供试品溶液制备方法提取测定,测得梓醇峰面积并计算含量,平均回收率为 97.7%, RSD= 1.54% ($n=5$)。

3.10 样品测定:分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μ L,按上述色谱条件测定,以外标一点法计算样品中梓醇的含量,结果见表 1。

表 1 阿胶远志膏中梓醇含量($n=3$)

Table 1 Content of catalpol in Ejiao Yuanzhi Extractum ($n=3$)

批号	梓醇/(mg · g ⁻¹)	RSD/ %
000506	0.359	2.01
000508	0.156	1.68
000528	0.200	0.63

4 讨论

4.1 当归中主要含有挥发油、有机酸、糖类、维生素等多种成分,文献报道的定性方法以检测挥发油和

有机酸类的阿魏酸为主。本品中难以检出挥发油成分,同时阿魏酸鉴别阴性有干扰,经过反复摸索,建立了当归其他特征成分的检测方法,也为当归中挥发油、有机酸成分以外的其他当归的水溶性成分建立了很好的薄层鉴别方法。

4.2 在供试品溶液的制备中,经过多方筛选,确定了用大孔吸附树脂柱进行分离纯化。经检验,水洗脱时洗脱液中无梓醇,经过 200 mL 20% 甲醇溶液的洗脱,再用甲醇洗脱,经检测甲醇洗脱液中不含梓醇成分,故确定收集 20% 甲醇洗脱液部分。在流动相的选择上,根据文献报道^[1]进行了反复试验,当减少水的含量而增加乙腈的含量时,虽然洗脱能力增强,但是梓醇的色谱峰与其他色谱峰相互叠加分离不开,干扰严重;当增加水的含量达到水-乙腈(99:1)时,虽然互不干扰,但是对梓醇的洗脱能力明显减弱,几乎检测不出梓醇的色谱峰,故最终确定流动相为水-乙腈(98.5:1.5)。

References:

- [1] Miao M S, Li Z G. *Modern Practical Controlling Technology of Chinese Medicine Qualities* (现代实用中药质量控制技术) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2000.

HPLC 法测定兔血浆中蛇床子素的含量

安 芳,王书华,张丹参,张 力*

(河北北方学院 化学药理学教研室,河北 张家口 075029)

蛇床子素又名甲基欧芹酚(osthol, Ost),是从伞形科植物蛇床成熟果实中提取的香豆素。国产蛇床子主要含香豆素类,其中蛇床子素的含量最高^[1~2]。蛇床子素具有抑制心脏、扩张血管、镇静、镇痛作用、对记忆的保持作用、抗诱变、抗癌作用等^[3~9]。蛇床子素的测定方法报道较多,但在组织和血液中采用 HPLC 法测定蛇床子素的浓度方法未见报道。本实验以丹皮酚为内标,建立了 HPLC 法测定兔血浆样品中蛇床子素含量的分析方法,适用于该药品的临床监控、药动学和生物利用度研究。

1 仪器与试药

Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国);D—37520 冷冻离心机(德国 Heraeus);GR—202AND 分析天

平(日本);756MC 紫外可见分光光度计(上海)。

蛇床子素(购自南京药物研究所植化室,纯度为 99%),乙腈、甲醇为色谱纯;丹皮酚(中国药品生物制品检定所,批号 0708-9704);肝素钠(北京市海淀区微生物培养基制品厂);实验用水为三重蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱为 YWG C₁₈(10 μ m, 4.6 mm × 250 mm),流动相为甲醇-水(80:20),流速为 1 mL/min,检测波长为 322 nm,柱温为 25℃,进样量为 10 μ L。

2.2 检测波长选择:精确称取蛇床子素,加入 N,N-二甲基甲酰胺溶解,聚山梨酯 80 助溶,用生理盐水稀释为 30 μ g/mL(N,N-二甲基甲酰胺最终浓度

* 收稿日期:2003-04-18

基金项目:河北省科技攻关项目(d00276147)

作者简介:安 芳,男,河北省张家口市人,硕士,副教授,主要从事中药分析与提纯及体内检测的药理研究,发表论文数十篇,其中被 SCI 收录 2 篇。Tel: (0313) 8045184 E-mail: anfang1965@yahoo.com.cn