

长超过 500 nm 后,吸光度值急剧下降。为减小实验误差和获得较高的灵敏度,选取 490 nm 作为测定波长。

3.1.2 显色剂用量的影响:实验操作方法基本同上,固定 5% NaNO₂ 溶液和 4% NaOH 溶液的体积分别为 0.40 mL 和 4 mL,加入 10% Al(NO₃)₃ 溶液的量分别为 0.20, 0.40, 0.60, 0.80, 1.00, 1.20 mL。结果表明,在其他条件相同的情况下,吸光度值随 Al(NO₃)₃ 溶液加入量的增加而增大,但当 Al(NO₃)₃ 溶液的加入量大于 0.40 mL 时,溶液中悬浮物出现,影响测定,故本实验条件下确定 Al(NO₃)₃ 溶液的加入量为 0.40 mL。

3.1.3 溶液酸碱度的影响:实验操作方法基本同上,固定 5% NaNO₂ 溶液和 10% Al(NO₃)₃ 溶液的体积均为 0.40 mL 和 0.40 mL,加入 4% NaOH 溶液的量分别为 1.00, 2.00, 3.00, 4.00, 5.00 mL。结果表明,NaOH 溶液的加入量在 3.00~4.00 mL 时,吸光度值较大且变化平缓,故本实验条件下采用 NaOH 溶液的适宜加入量为 4 mL。

3.1.4 显色时间的选择:由吸光度对显色时间的关系曲线可得,显色后溶液的吸光度值有下降趋势,在 50 min 内,计算吸光度值的 RSD < 1%,故规定测量在 50 min 内完成。

3.2 标准曲线的制备:取儿茶素对照品溶液 0.00, 0.10, 0.20, 0.30, 0.40, 0.50, 0.60 mL,分别置 10 mL 量瓶中,按 3.1 项下方法进行显色反应,以试剂空白作参比,求得线性回归方程为 $A = 32.103 C + 0.0033$, $r = 0.9996$,线性范围 0.0042~0.0252 mg/mL。

3.3 重现性试验:取一份样品,进行 6 次平行测定,结果吸光度值的 RSD 为 0.9%。

3.4 回收率试验:采用加样回收法。在茶多酚量为 0.059 mg 的样品溶液中加入儿茶素对照品 0.1196

($n = 3$), 0.1380 ($n = 4$) 和 0.1564 mg ($n = 3$),按 3.2 项下的方法进行。结果平均回收率为 99.93%, RSD 为 0.93% ($n = 10$)。

3.5 样品分析:取 3 个批号的注射剂,分别制备供试品溶液,依法测定吸光度值,代入标准曲线的回归方程,换算成以儿茶素计的样品中茶多酚含量。结果见表 1。

表 1 茶多酚注射剂中茶多酚的含量测定结果 ($n = 6$)

Table 1 Content of tea polyphenols in Tea Polyphenols Injection ($n = 6$)

批号	茶多酚 / (mg · mL ⁻¹)
020805	13.7
030308	11.0
991223	2.4

4 讨论

实验过程中发现,加入 NaOH 溶液一方面是为了调节 pH,使茶多酚和 Al³⁺ 的络合物在碱性条件下进一步醌式化,产物显橙红色。另一方面,为使络合反应进行完全,还应加入适当过量的 Al³⁺,因为 Al³⁺ 具有两性离子的特征,其碱性条件下水解产物 Al(OH)₃ 易干扰测定,为解决此问题,溶液中还应保持适当过量 OH⁻,使过量的 Al³⁺ 以无色透明的 [Al(OH)₄]⁻ 存在。

NaNO₂ 存在下用 Al³⁺ 作为络合离子在碱性条件下显色的方法目前主要用于以芦丁为代表的黄酮类物质的含量测定。本法产物最终形成五元螯环结构,是邻二酚羟基的专属性反应。茶多酚的主体及主要生理活性成分儿茶素类的 6 种单体均具有邻二酚羟基,所以,用此法定量专属性好。而且,和基于酚羟基还原性的高锰酸钾滴定法^[2]相比,本方法具有更高的选择性。

References

- [1] GB 8317-87 [S]. 1992
- [2] Yu T. Natural TP with great developed future [J]. *Guangxi Light Ind* (广西轻工业), 1996 (3): 6-11.

HPLC法测定复方五味子软胶囊中五味子甲素的含量

陈光龙*

(深圳市宝发区人民医院,广东 深圳 518101)

复方五味子软胶囊是由五味子、远志、柏子仁等经超临界流体萃取制成的制剂。主要药味五味子具

有上敛肺气、下滋肾阴兼有补肾宁心之功效,对中枢神经系统有双向调节作用,与远志、柏子仁等味药配

伍,具有解表除烦,养心安神、镇静助眠的作用,用于精神不安、失眠健忘、虚烦不眠、夜寝多梦等症。五味子素类是复方五味子软胶囊中主要活性成分之一,因此本实验采用 HPLC 法对复方五味子软胶囊中的五味子甲素进行测定,方法简便、快捷、准确,结果满意。

1 仪器与试剂

Waters 高效液相色谱仪, Waters 2487 紫外检测器, 515 泵, 杭州英谱 HS 色谱工作站。

五味子甲素对照品(中国药品生物制品检定所提供, 归一化法测得纯度为 99.5%), 甲醇为色谱纯, 水为二次重蒸水, 复方五味子软胶囊(自制)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱为 Diamonsil™ C₁₈ 柱(200 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水(67:33), 检测波长为 254 nm, 流速为 1 mL/min。

2.2 对照品溶液的制备: 取五味子甲素对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成 0.88 mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备: 取复方五味子软胶囊一粒, 取内容物, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 以甲醇充分溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液备用。

2.4 线性关系考察: 精密量取五味子甲素对照品溶液适量, 用甲醇制成 8.8, 17.6, 24.4, 35.2, 44 μg/mL 溶液, 分别进样 10 μL, 各进样两次, 测定峰面积, 求平均值, 以进样量对峰面积作标准曲线, 进行线性回归, 得回归方程 $Y = 38\ 551\ 544.43 X$, $r = 1.000$ 表明五味子甲素在 0.088~0.44 μg 与峰面积呈良好线性关系。

2.5 精密度试验: 对同一供试品溶液重复进样 6 次, 每次 10 μL, 依法测定五味子甲素的峰面积, 其 RSD 为 0.27%。

2.6 稳定性试验: 取同一供试品溶液, 依法于 0, 4, 8, 12, 24 h 各进样 10 μL, 测定五味子甲素的峰面积, 结果 RSD 为 0.49%。

2.7 重现性试验: 取批号为 20020813 的样品, 称取 6 份, 制备供试品溶液, 依上述色谱条件, 分别测定,

结果五味子甲素峰面积的 RSD 为 0.84%。

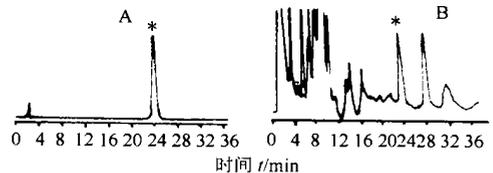
2.8 加样回收率试验: 取含五味子甲素 0.0125 mg/mL 的复方五味子软胶囊稀释液, 精密量取 1 mL, 置 5 mL 量瓶中, 分别精密加入一定量的五味子甲素对照品, 加甲醇溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 各取 10 μL, 进样, 测定峰面积, 计算回收率。结果平均回收率为 100.52%, RSD 为 0.98%。

2.9 样品测定: 取不同批号的复方五味子软胶囊, 制备供试品溶液, 分别精密量取对照品溶液和供试品溶液各 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 测定峰面积, 按外标法计算, 结果见表 1 和图 1。

表 1 复方五味子软胶囊中五味子甲素的含量测定结果 (n=3)

Table 1 Content of schizandrin A in Compound Wuweizi Soft Capsules (n=3)

批号	五味子甲素/(mg·g ⁻¹)
20020813	1.35
20020814	1.34
20020815	1.42



* 五味子甲素
* -schizandrin A

图 1 五味子甲素对照品(A)和复方五味子软胶囊(B)的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatograms of schizandrin A reference substance (A) and Compound Wuweizi Soft Capsule (B)

3 讨论

3.1 《中华人民共和国药典》2000 年版一部中五味子项下含量测定以五味子醇甲为对照品, 选用甲醇-水(13:7)为流动相, 检测波长为 250 nm, 而本实验的选择结果较理想。

3.2 样品测定时必须将软胶囊的内容物全部用甲醇定量转移至量瓶中, 且胶囊干燥后精密称定, 否则易造成较大误差。

欢迎订阅《中草药》杂志 2002 年增刊

为了加快中药现代化的进程, 交流中药指纹图谱研究的经验, 讨论入世后我国中药产业面临的挑战和对策, 本刊在 2002 年 10 月底出版以“中药现代化”和“中药指纹图谱”为主要内容的增刊。欢迎广大读者直接向《中草药》杂志编辑部订阅。定价: 60.00 元, 另加 5.00 元邮费, 款到寄刊。

本刊另有 1996-2003 年增刊, 欢迎订阅。

编辑部地址: 天津市南开区鞍山道 308 号 邮编: 300193

电话: (022)27474913 23006821 传真: (022)23006821 E-mail: zcyzjb@tjipr.com