

料药及生产工艺等环节,从而使产品质量有所提高;因厂家3执行部颁标准后的产品在北京市场上缺失,故未能检测。

3.3 由七叶皂苷钠的含量测定结果可见各厂家、各批号的产品之间的含量差异较大,如果只考察总七叶皂苷钠的含量则不能全面反映产品质量,建议注射用七叶皂苷钠的国家标准中增加对七叶皂苷钠A

和七叶皂苷钠B含量的考察。

References:

- [1] *Material Medica Standards of State Drug Administration* (国家药品监督管理局药品标准) [S]. W S1-XG-003-99. 2000.
- [2] Dong Y W. Determination of sodium aescinate content [J]. *Chin J Hosp Pharm* (中国医院药学杂志), 2002, 22(4): 218-219.
- [3] Li J. Application of HPLC-ELSD on quality control of aescin for Injection [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31(8): 582-583.

骨质增生一贴灵的质量标准研究

马开¹, 秦文杰¹, 戴雪平^{2*}

(1. 河南省中医药研究院, 河南 郑州 450004; 2. 河南省药品检验所, 河南 郑州 450003)

骨质增生一贴灵由当归、丁香、肉桂、冰片、薄荷脑等中药制成的橡胶膏剂,具有活血化瘀,散寒通络,祛风除湿,软坚散结,止痛的功效,用于骨质增生引起的疼痛,肢体沉困、麻木,活动不利,颈项强直等症。为控制产品质量,本实验采用薄层色谱法对处方中的当归、丁香、肉桂、冰片、薄荷脑进行定性鉴别,采用HPLC法对制剂中阿魏酸进行含量测定。

1 仪器与试剂

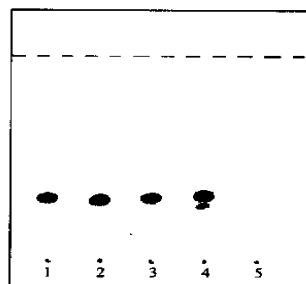
日本岛津CLA SS-V P 10A vp 高效液相色谱仪, Nanomat II 薄层点样仪(CAMAG), 定量毛细管(CAMAG), 双槽层析缸(上海信谊仪器厂)。硅胶G(青岛海洋化工厂); 当归对照药材、丁香酚、桂皮醛、冰片、薄荷脑、阿魏酸对照品(中国药品生物制品检定所), 实验药材经鉴定符合《中华人民共和国药典》2000年版一部规定, 骨质增生一贴灵由河南灵锐制药股份有限公司提供, 所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

2.1.1 当归的鉴别: 取本品4片, 除去盖衬, 剪成小块, 置250 mL 烧瓶中, 加水100 mL, 连接挥发油测定器, 自测定器上端加水使充满刻度部分, 并溢流入烧瓶为止, 再加醋酸乙酯3 mL, 加热回流1 h, 将挥发油测定器中的液体移至分液漏斗中, 分取醋酸乙酯层, 加无水硫酸钠脱水后, 作为供试品溶液。按工艺制备不含当归的阴性样品, 同法制得阴性对照溶液。另取当归对照药材0.5 g, 同法制成当归对照药材溶液。吸取上述3种溶液各4 μ L, 分别点于同一

硅胶G薄层板上, 以环己烷-醋酸乙酯(9:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365 nm)下检视, 供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上显相同颜色的荧光斑点。阴性对照溶液色谱中无此相应斑点(图1)。



1~3-供试品 4-当归对照药材
5-阴性样品
1-3-samples 4-Radix Angelicae Sinensis
5-sample without Radix Angelicae Sinensis

图1 当归的TLC图谱

Fig 1 TLC of Radix Angelicae Sinensis

2.1.2 丁香的鉴别: 取2.1.1项下供试品溶液作为供试品溶液。按工艺制备不含丁香的阴性样品, 同法制得阴性对照溶液。另取丁香酚对照品, 加醋酸乙酯制成2 μ g/mL的对照品溶液。吸取上述3种溶液各4 μ L, 分别点于同一硅胶G薄层板上, 以苯-丙酮(9:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以

5%香草醛硫酸溶液, 105 $^{\circ}$ C烘至显色清晰。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。阴性对照溶液色谱中无此相应斑点(图2)。

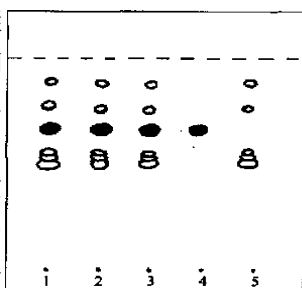
2.1.3 肉桂的鉴别: 取2.1.1项下供试品溶液作为供试品溶液。按工艺制备不含肉桂的阴性样品, 同法制得阴性对照溶液。另取桂皮醛对照品, 加醋酸乙酯制成1 μ L/mL的对照品溶液。吸取上述3种溶液各

* 收稿日期: 2003-11-06

作者简介: 马开(1968—), 男, 河南省郑州市人, 助理研究员, 1991年毕业于河南中医学院, 主要从事中药新药的研制与开发工作。
Tel: (0371) 6331718

4 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚 (60~90 $^{\circ}\text{C}$)-醋酸乙酯 (8.5 : 1.5) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以二硝基苯肼乙醇溶液。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。阴性对照溶液色谱中无此相应斑点 (图 3)。

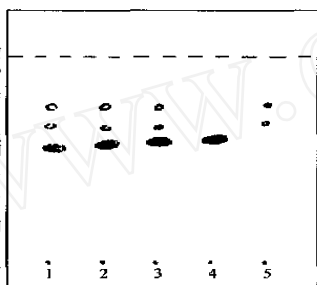
2.1.4 冰片、薄荷脑的鉴别: 取 2.1.1 项下供试品溶液作为供试品溶液。按工艺制备不含冰片或薄荷脑的阴性样品, 同法制得阴性对照溶液。另取冰片、薄荷脑对照品, 各加醋酸乙酯制成 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对照品溶液。吸取上述 3 种溶液各 2 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚 (30~60 $^{\circ}\text{C}$)-醋酸乙酯-苯 (18 : 2 : 4) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 香草醛硫酸溶液, 105 $^{\circ}\text{C}$ 烘至显色清晰。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上显相同颜色的斑点。阴性对照溶液色谱中无此相应斑点 (图 4)。



1~3-供试品 4-丁香酚对照品
5-阴性样品
1-3-samples 4-eugenol
5-sample without *Flos Caryophylli*

图 2 丁香的 TLC 图谱

Fig 2 TLC of *Flos Caryophylli*



1~3-供试品 4-桂皮醛对照品
5-阴性样品
1-3-samples 4-cinnamaldehyde 5-sample without *Cortex Cinnamomi*

图 3 肉桂的 TLC 图谱

Fig 3 TLC of *Cortex Cinnamomi*

2.2 含量测定

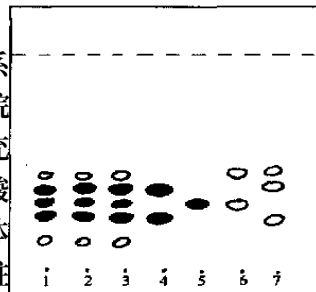
2.2.1 色谱条件与系统适用性试验: 十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 甲醇-0.5% 磷酸 (55 : 60) 为流动相, 体积流量为 1 mL/min , 柱温为室温, 检测波长为 313 nm 。

2.2.2 对照品溶液的制备: 精密称取阿魏酸对照品 10 mg 置 100 mL 量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 摇匀。精密吸取 5 mL 置 10 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 得 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的阿魏酸对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备: 取本品 2 片, 除去盖衬, 剪成小块 (1 $\text{cm} \times 1 \text{cm}$), 置锥形瓶中, 加 0.05 mol/L 氢氧化钠溶液 60 mL , 水浴回流 6 h , 取出, 冷至室温, 滤过, 用 0.05 mol/L 氢氧化钠溶液洗涤, 滤过, 合并滤液及洗液, 置分液漏斗中, 加稀盐酸调 pH 为 1, 用乙醚萃取 4 次 (30、20、20、20 mL), 合并乙醚萃取液, 加无水硫酸钠脱水后回收乙醚, 残渣加热水使充分溶解, 滤过 5 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度即得。

2.2.4 阴性对照溶液的制备: 按处方比例称取除当归、川芎外的其他药材, 同法制得阴性对照溶液。

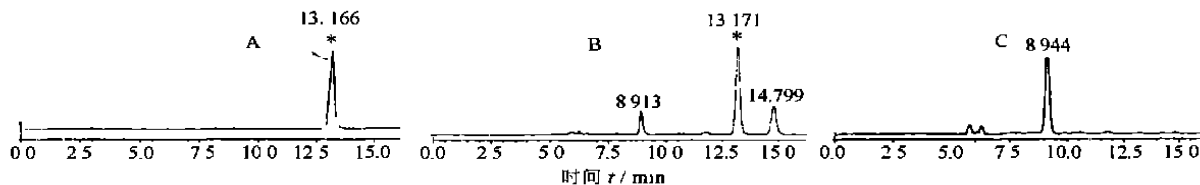
2.2.5 干扰试验: 照上述色谱条件, 分别取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液, 注入色谱仪, 记录色谱图 (图 5), 可见空白试验无干扰。



1~3-供试品 4-冰片对照品
5-薄荷脑对照品 6-阴性样品
(不含冰片) 7-阴性样品 (不含薄荷脑)
1-3-samples 4-Borneolum
Synthetic 5-Mentholum
6-sample without Borneolum
Synthetic 7-sample without Mentholum

图 4 冰片、薄荷脑 TLC 图谱

Fig 4 TLC of Borneolum
Synthetic Mentholum



* -阿魏酸 A-阿魏酸对照品 B-供试品溶液 C-阴性对照

* -ferulic acid A-ferulic acid reference substance B-sample C-sample without *Radix Angelicae Sinensis* and *Rhizoma Chuanxiong*

图 5 HPLC 图谱

Fig 5 HPLC chromatograms

2.2.6 线性关系考察: 精密吸取阿魏酸对照品溶液 (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 1、2、3、4、5、6 μL , 注入色谱仪, 以进样量 (Y) 对峰面积积分值 (X) 进行线性回归, 结果阿魏

酸在 0.05~0.30 μg 与峰面积线性关系良好, 回归方程 $Y = 4.82 \times 10^{-6} X + 3.55 \times 10^{-3}$, $r = 0.9999$ 。

2.2.7 精密度试验: 按 2.2.2 项下方法制备供试品

溶液, 重复进样 5 次, 记录阿魏酸吸收峰峰面积, 结果 $RSD = 0.6\%$ ($n = 5$)。

2.2.8 稳定性试验: 照上述色谱条件, 取批号为 951212 样品, 制备供试品溶液, 于 0、1、2、4、6、12 h 进行含量测定, 记录阿魏酸吸收峰峰面积, 结果供试品溶液在 12 h 内基本稳定, $RSD = 1.7\%$ ($n = 6$)。

2.2.9 重现性试验: 取同一批样品 (批号为 951212), 平行制备 5 份供试品溶液, 分别进行阿魏酸质量分数测定, $RSD = 1.2\%$ ($n = 5$)。

2.2.10 回收率试验: 精密取已知含量的同一批样品 6 份 (批号为 951212, 阿魏酸质量分数为 0.058 mg/片), 回流提取前分别精密加入阿魏酸对照品 ($50 \mu\text{g/mL}$) 3、4、5 mL, 水浴挥干, 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 测定时进样量均为 $5 \mu\text{L}$, 计算回收率。结果平均回收率为 100.4% , $RSD = 1.1\%$ ($n = 6$)。

2.2.11 样品含量测定: 按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液, 取供试品溶液和对照品溶液, 分别进样, 测定 3 批样品中阿魏酸含量, 结果见表 1。

表 1 骨质增生一贴灵中阿魏酸的测定结果 ($n = 3$)

Table 1 Content of ferulic acid in Guzhi Zengsheng Yitieling ($n = 3$)

批 号	阿魏酸/ $(\text{mg} \cdot \text{片}^{-1})$	RSD/%
951212	0.058	2.1
960310	0.084	2.8
960330	0.066	2.3

3 讨论

曾采用甲醇回流提取供试品, 但该法选择性较差, 所制得的供试品溶液按上述色谱条件, 60 min 峰仍未出完, 且阿魏酸峰和杂质峰重叠, 利用阿魏酸和强碱成盐更易溶于水的性质, 采用 0.05 mol/L 氢氧化钠溶液提取, 只提出酸性成分, 而多数中性及挥发性成分则保留在基质中, 色谱测定结果也表明阿魏酸峰分离较好, 色谱图在 20 min 内记录完毕。由于水和基质性质差异较大, 影响水和包藏在基质中的药物接触, 故采用水浴回流提取, 并延长提取时间, 实验结果表明, 提取 6 h 后, 基质中已检不出阿魏酸存在。提取液酸化后有大量沉淀, 加乙醚提取后沉淀消失, 提取 4 次后, 水液中已检不出阿魏酸。

RP-HPLC 法测定脉络宁注射液中滨蒿内酯的含量

李文莉, 汪文涛, 雷玉萍, 蒋 丽*

(湖南省药品检验所, 湖南 长沙 410001)

脉络宁注射液由金银花、牛膝、玄参、石斛制成, 具有清热养阴, 活血化瘀的功能, 用于血栓闭塞性脉管炎, 静脉血栓形成, 动脉硬化性闭塞症, 脑血栓形成及后遗症等。方中石斛含生物碱、多糖、滨蒿内酯、阿牙品等成分。关于滨蒿内酯的含量测定方法有薄层扫描法的报道^[1]。本研究采用 RP-HPLC 法测定其中滨蒿内酯的含量。

1 仪器与试药

Waters 244 高效液相色谱仪, SPD-10A 紫外检测器, N2000 色谱工作站。

滨蒿内酯对照品 (由中国药品生物制品检定所提供, 批号: 1511-200001, 纯度为 98.7%); 甲醇为色谱纯, 乙醇为分析纯, 水为重蒸水。

2 方法和结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Kromasil 柱 ($200 \text{ mm} \times$

4.6 mm , $4.6 \mu\text{m}$); 流动相: 乙腈-水 ($20:80$); 体积流量: 1.0 mL/min ; 检测波长: 343 nm ; 灵敏度: 0.1 AUFS ; 柱温: 室温 (24°C); 进样量: $10 \mu\text{L}$ 。在上述色谱条件下, 滨蒿内酯峰保留时间约为 21 min 。

2.2 线性关系的考察: 精密吸取滨蒿内酯对照品溶液 ($21.12 \mu\text{g/mL}$) 5.0、5.0、10.0、3.0、5.0 mL 分别于 100、50、50、10、10 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度。各取 $20 \mu\text{L}$ 进样测定, 记录峰面积。以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 计算得回归方程为 $Y = 394.927.03X - 374.36$, $r = 0.9999$ 。结果表明滨蒿内酯在 $0.042 \sim 0.42 \mu\text{g}$ 线性关系良好。

2.3 精密度试验: 精密吸取同一供试品溶液 $20 \mu\text{L}$, 连续进样 5 次, 测定滨蒿内酯峰面积, 结果 $RSD = 2.23\%$ 。

2.4 稳定性试验: 取同一份供试品溶液, 分别在 0、