

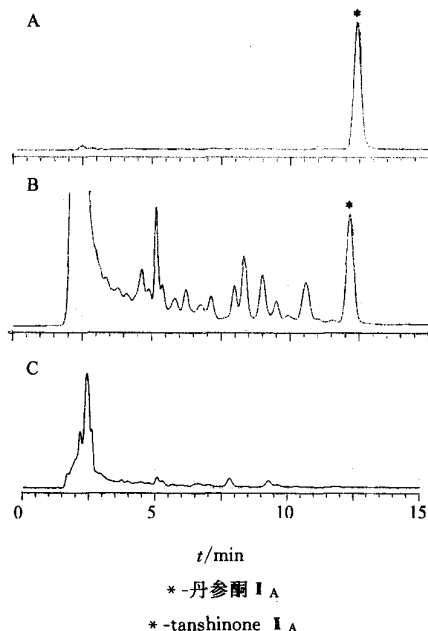


图 1 丹参酮Ⅱ_A对照品(A)、乳痛丸(B)和阴性对照(C)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of tanshinone I_A reference substance (A), Rutong Pills (B), and negative sample (C)

6、8 h 进样,测定丹参酮Ⅱ_A的峰面积,计算得其 RSD 为 1.9%。

2.9 回收率试验:取样品适量,9 份,每组 3 份,分别精密加入丹参酮Ⅱ_A对照品 50.64、102.4、153.6 μg,制备供试品溶液,进样,测定,计算得平均回收率为 99.23%,RSD 为 1.3%。

2.10 样品测定:取 5 批样品,制备供试品溶液,进

样,测定峰面积,带入标准曲线方程计算丹参酮Ⅱ_A的质量分数,结果见表 1。

表 1 乳痛丸中丹参酮Ⅱ_A的测定结果(n=3)

Table 1 Determination of tanshinone I_A in Rutong Pills (n=3)

批 号	丹参酮Ⅱ _A /(mg·丸 ⁻¹)
61019	1.99
61020	2.00
61025	1.90
61026	1.94
61027	2.06

3 讨论

实验对乳痛丸溶液进行紫外光谱全波长扫描,确定丹参酮Ⅱ_A的检测波长为 270 nm。结果表明选用该波长进行测定,其他组份和辅料无干扰。

文献报道^[2]采用甲醇-水(90:10)作流动相测定丹参酮Ⅱ_A。本实验经比较,调整比例为甲醇-水(85:15)效果更佳,峰形对称,与其他组分的分离度大于 2。

实验采用超声提取,分别考察了超声 15、20、30 min,发现超声处理 30 min 时提取完全。

用甲醇提取样品时,发现杂质峰较多,对测定有干扰。由于丹参酮Ⅱ_A为脂溶性成分,改为提取液乙醇-甲醇(20:80)时,既能提取完全,又能使杂质峰得到较好的分离。

References:

- [1] Ch P (中国药典)[S]. Vol I. 2005.
- [2] Yang Z L, Cao M. Extraction method research of tanshinone I_A in Radix Salviae Miltorrhizae [J]. J Guiyang Coll Tradit Chin Med (贵阳中医学院学报), 2005, 27(1): 60-61.

高效毛细管区带电泳法测定三黄片中黄芩苷

高苏亚¹, 党高潮¹, 李 华²

(1. 西北大学 化学系, 陕西 西安 710069; 2. 西北大学分析科学研究所, 中药现代化研究中心, 陕西 西安 710069)

三黄片为常用中药制剂,由大黄、黄芩、黄连 3 味中药组成,具有清热解毒,泻火通便之功效,用于三焦热盛、目赤肿痛、口鼻生疮、牙龈出血、尿赤便秘、急性肠胃炎、痢疾等症。《中国药典》2005 年版一部三黄片项下只对大黄进行了定量控制。三黄片中黄芩苷测定方法的报道有高效液相色谱法、薄层扫

描法等。本实验采用高效毛细管区带电泳测定三黄片中黄芩苷,结果表明实验可靠、简便,可为三黄片的质量监控提供参考。

1 仪器与试剂

HPCE—01 高效毛细管电泳仪(山东省化工研究院),DD2000 紫外可变波长检测器;N2000 色谱

收稿日期:2006-09-09

基金项目:国家自然科学基金资助项目(20675063)

作者简介:高苏亚(1971—),女,陕西西安人,硕士,现工作于西安医学院药系,研究方向为中药质量控制、生物分析化学和过程分析研究。Tel:(029)88302942 E-mail:gaosuya1972@163.com

数据工作站(浙江大学智能信息工程研究所);Orion 酸度计(美国 Orion Research Incorporated);岛津 UV-2450 分光光度计。

黄芩苷对照品(陕西赛德高科生物股份有限公司提供,质量分数>99%)。所用水为二次重蒸水,其他试剂均为分析纯。三黄片购于本市药店,分别为山西亚宝药业集团股份有限公司生产,批号 050707、050717,0.3 g/片;哈药集团三精黑河药业有限公司生产,批号 060101,0.4 g/片;佛慈集团平凉佛明制药有限公司生产,批号 060111,0.3 g/片。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的配制:精密称取在 60 ℃减压干燥 4 h 的黄芩苷对照品 21.50 mg,置 25 mL 量瓶中,加 80%甲醇溶解并加至刻度,摇匀,即得。于冰箱中储藏备用。

2.2 供试品溶液的制备:取三黄片样品 10 片,除去包衣,研细,混匀,精密称取适量(约两片重),置 50

mL 量瓶中,加 80%甲醇 30 mL,摇匀后超声处理 20 min,放冷,加 80%甲醇至刻度,分别取上清液 2 mL,用 80%甲醇稀释至 10 mL,摇匀,用 0.45 μm 微孔醋酸纤维滤膜滤过,备用。

2.3 阴性对照溶液的制备:按处方比例及制备方法,制备不含黄芩的阴性样品,按供试品溶液的制备项下方法制备阴性溶液。

2.4 电泳条件:以 40 mmol/L 硼砂缓冲液(用硼酸调节 pH 8.95)为电泳介质,未涂层石英毛细管(65 cm×75 μm,有效长度 55 cm)为分离通道,静压力进样 10 s(高度 10 cm),运行电压 18 kV,检测波长 277 nm,温度 25 ℃。毛细管使用前用 0.10 mol/L NaOH、水、0.10 mol/L HCl 洗 5 min 进行活化,每次运行间用水、缓冲溶液各冲洗 3~5 min。为了保证重现性,缓冲溶液每运行 3 次后更换。在此操作条件下,得电泳谱图,见图 1。

2.5 线性关系考察:精密吸取 0.860 mg/mL 黄芩

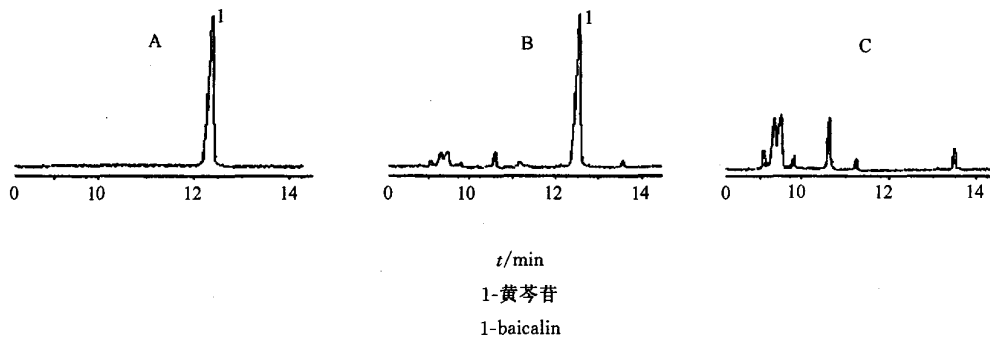


图 1 黄芩苷对照品(A)、三黄片(B)和阴性对照(C)的毛细管电泳谱图

Fig. 1 Capillary electrophorograms of baicalin reference substance (A), Sanhuang Tablets (B), and negative sample (C)

苷对照品储备溶液 10 mL 于 25 mL 量瓶中,用 80%甲醇稀释至刻度,摇匀。分别精密吸取 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、5.0 mL 于 10 mL 量瓶中,用 80%甲醇稀释至刻度,摇匀。分别进样,记录谱图。以黄芩苷峰面积对其质量浓度作线性回归处理,得回归方程 $Y=243.25X-195.4$, $r=0.9992$ 。结果表明,黄芩苷在 0.034 4~0.172 0 mg/mL 与峰面积具有良好的线性关系。

2.6 精密度试验:精密吸取 0.344 mg/mL 黄芩苷对照品溶液,重复进样 6 次,测定,结果黄芩苷迁移时间的 RSD 为 0.91%,峰面积的 RSD 为 3.72%。

2.7 重现性试验:取批号 050707 的三黄片供试品溶液,重复进样 6 次,测定,计算得黄芩苷平均质量分数为 35.9 mg/g, RSD 为 3.56%。

2.8 稳定性试验:取批号 050707 的三黄片供试品溶液在 0、2、4、8、16、24 h 分别进样测定,计算得黄

芩苷峰面积的 RSD 为 3.86%。可见供试品溶液在 24 h 内是稳定的。

2.9 加样回收率试验:精密称定批号 050707 的三黄片样品(含黄芩苷 35.9 mg/g)约 0.015 g,共 6 份,分别精密加入 0.176 6 mg/mL 黄芩苷对照品溶液 1.5、1.5、3.0、3.0、6.0、6.0 mL,制备供试品溶液,进样测定,计算,结果平均回收率为 100.64%, RSD 为 1.67%。

2.10 样品测定:精密称取不同厂家的三黄片,制备供试品溶液,进样测定,以峰面积代入回归方程计算黄芩苷的质量分数,结果见表 1。

3 讨论

3.1 波长的选择:经分光光度计在 190~400 nm 扫描发现,黄芩苷在 316、277、214、204 nm 处均有吸收,在 316 nm 吸收较弱。本实验选择 277 nm 作为检测波长,检测灵敏度高,并可避免短波长时较多

表 1 不同厂家三黄片中黄芩苷的测定结果 (n=6)
Table 1 Determination of baicalin in Sanhuang Tablets from different manufactures (n=6)

批号	黄芩苷/(mg·片 ⁻¹)	RSD/%
050707	13.60	2.39
050717	13.53	3.89
060101	9.57	4.02
060111	3.83	2.38

杂质吸收的干扰。

3.2 缓冲体系的选择:考察了硼砂、硼酸、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾缓冲体系作为运行缓冲液时样品的分离情况,结果发现,硼砂分离效果较好,基线较平稳。

3.3 缓冲溶液浓度和 pH 值对分离的影响:缓冲溶液的浓度和 pH 值会影响 Zeta 电势、电渗流和分析物的带电情况、扩散系数、溶液的黏度系数和毛细管的表面,从而影响各组分在缓冲溶液中的迁移行为,对分离的影响很大。本实验依次考察了 pH 7~10 和浓度在 20~60 mmol/L 时样品的分离情况。结果表明,pH 值<9.5 时黄芩苷与前后未知峰都能够达到基线分离,但当 pH 值>8.95 时,分析时间延长,峰拖尾因子增大。可能是离子强度增大,产生较多的焦耳热,导致谱带展宽和各组分迁移行为的改变。因

此选择 pH 8.95 作为最佳 pH 值条件。随着缓冲液浓度的增加,分离度提高,但样品的迁移时间延长,并会增加焦耳热效应。本实验选择浓度为 40 mmol/L 硼砂缓冲溶液,此条件下黄芩苷与前后两个未知峰均能很好分离且峰形较好。

3.4 分离电压和进样时间的影响:实验考察了分离电压 12~24 kV 和进样时间 2~15 s 对分离的影响。结果表明,随着分离电压的升高,迁移时间明显缩短,峰高增加,说明升高电压在一定范围内可提高电泳分离效率。随着进样时间的增加,峰高和峰宽增加,当分离电压超过 18 kV 和进样时间超过 10 s 后,峰高增加程度减慢,但基线噪音升高,峰展宽加剧。综合考虑,本实验选用 18 kV 分离电压和 10 s 进样时间作为最优条件。

全面、系统的质量控制是中药现代化的重要内容。为保证三黄片的整体疗效,笔者认为应对三黄片中的黄芩浸膏的质量进行定量控制。本实验建立的测定三黄片中黄芩苷的高效毛细管区带电泳法,可作为三黄片质量控制的一种有效分析方法,同时对市售三黄片的质量监测有一定意义。

拨云退翳丸的质量控制方法研究

宋新波,张丽娟,李 锦,张永旺,郑 瑾,刘黄刚
(天津中医药大学,天津 300193)

拨云退翳丸是《中国药典》2005 年版一部收录的成方制剂,是由密蒙花、蒺藜(盐炒)、菊花、木贼、蛇蜕、蝉蜕、荆芥穗、蔓荆子、薄荷、当归、川芎、黄连、地骨皮、花椒、楮实子、天花粉、甘草 17 味中药组成的传统蜜丸。具有散风明目、消障退翳的功效,用于目翳外障、视物不清、隐痛流泪。为进一步提高其质量标准,更有效地控制内在质量,本实验对其进行显微鉴定,检出全方 17 种组成药味,避开交叉,排除干扰,选取各药具有鉴别价值的特征,绘制墨线图。并研究了其中花椒、甘草、木贼、蔓荆子的薄层色谱行为,与显微鉴定结论吻合。采用 HPLC 法建立了拨云退翳丸中甘草酸的测定方法。结果表明方法专属性较强,能够有效地控制拨云退翳丸中的质量。

1 显微鉴定

- 1.1 仪器与材料:Olympus CX41 生物显微镜,拨云退翳丸由天津达仁堂制药厂生产,批号 D542014、D542015、D542019。
- 1.2 方法与结果:以水溶解蜜丸,滤过后制备粉末制片,镜下观察各药味的鉴别特征。见图 1。
 - 1.2.1 密蒙花:星状毛多碎断,完整者体部 2 细胞,基部并列,每细胞 2 分叉,分叉较平直或稍弯曲,先端渐尖。花粉粒呈类圆形,具 3 孔沟,表面纹饰不明显,隐约可见呈颗粒状。
 - 1.2.2 木贼:茎表皮碎片表皮细胞表面观呈长方形,垂周壁甚厚,深波状弯曲,整齐;纵断面观壁厚,有孔沟。茎表皮碎片气孔深陷,纵行排列,长椭圆形,保卫细胞内壁具多数横向平行的条状增厚。
 - 1.2.3 蒺藜:内果皮纤维成束,淡黄色,上下数层纵