

表2 染料木苷不确定度分量
Table 2 Uncertainty item of genistin

名称	分量	不确定度来源	分布	类型	相对不确定度
对照品称样	$u(m_1)$	天平示值的不确定度 $u(m_{11})$	矩形	B类	0.58%
		天平称量重复性的不确定度 $u(m_{12})$	正态	A类	
对照品稀释	$u(V_{13})$ 、 $u(V_{14})$	校准容量瓶的不确定度 $u(V_{131})$	三角	B类	1.13%
	$u(V_{16})$ 、 $u(V_{15})$	定容重复性的不确定度 $u(V_{132})$	正态	A类	
	$u(V_{15})$				
对照品峰面积	$u(A_i)$	对照品溶液进样重复性的不确定度	正态	A类	2.76%
样品称样	$u(m_2)$	天平示值的不确定度 $u(m_{21})$	矩形	B类	0.58%
		天平称量重复性的不确定度 $u(m_{22})$	正态	A类	
样品稀释	$u(V_2)$	校准量瓶的不确定度 $u(V_1)$	三角	B类	0.066%
		定容重复性的不确定度 $u(V_{12})$	正态	A类	
样品峰面积	$u(A_i)$	样品溶液进样重复性的不确定度	正态	A类	2.28%

法,由于配制的样品与对照品的质量浓度相近,其峰面积响应中可能的非线性引入的不确定度可忽略。环境温度、环境湿度的随机变化对质量、峰面积会带来影响,其不确定度纳入称量重复性、进样重复性中,因样品和对照品几乎为同时操作,故环境温度湿度的系统影响而可忽略。

由于本实验中使用的天平和量瓶的精密度较高,不确定度均参考检定和实验的数据,未采用最大允差,且称量接近、操作简单,不包括人为过失误差,故不确定度较小。由于HPLC仪本身对测定结果的影响因素很多,难以一一评估。又因为在实际测定中,HPLC仪误差引起的不确定度已体现在色谱峰面积的测量结果中,所以对HPLC仪的体积流量、流量精度和进样精密度等各因素的不确定度分量不作另行细化讨论。实验未进行回收率的不确定度评定,并以回收率对检测结果进行修正,因为回收率测得值的离散度是包含在测量结果离散度内的,且用回收率修正结果,不仅会重复评定,而且会脱离实际^[2]。

分析评估不确定度时,应尽量考虑到产生不确定度的所有来源,因为合成不确定度的数值几乎完全取决于重要的不确定度分量。根据上述评定可得,本方法测量大豆苷结果的各分量不确定度均较小,测量染料木苷结果的不确定度主要来自于对照品和样品的峰面积的不确定度、稀释对照品带来的不确定度。比较大豆苷和染料木苷的不确定度,染料木苷的扩展不确定度($\pm 0.79\%$)为大豆苷的扩展不确定度($\pm 0.51\%$)的1.5倍。这是由于染料木苷对照品的质量浓度较低,约为大豆苷对照品的1/5倍,故染料木苷在高效液相色谱上的响应不稳定而造成其峰面积不确定度较大。且染料木苷对照品稀释次数较多,稀释过程中带来了较大的不确定度。在分析了以上影响测量不确定度的原因后,如果采取了相应的措施,完全可以将测量结果的不确定度进一步减小。

参考文献:

- [1] 测量不确定度评定与表示[S]. JF 1059-1999,1999.
- [2] 冯家力,潘振球,曾 栋,等.气相色谱-质谱法测定马兜铃的测量不确定度评定及防止重复评定的探讨[J].中国卫生检验杂志,2006,16(8):1011.

毛知母的减压加温润制工艺研究

宋 坤,陆兔林,季 德*

(南京中医药大学药学院,江苏 南京 210029)

摘 要:目的 探讨毛知母的最佳减压加温润制工艺。方法 以菝葜皂苷元、芒果苷为指标选择润制时间、润制温度、润制压力3个因素,用 $L_9(3^4)$ 正交设计表,采用方差分析法,对毛知母进行减压加温润制工艺的优选。结果 润

收稿日期:2008-05-07

作者简介:宋 坤(1973—),江苏省南京人,讲师,从事中药饮片质量标准方面的研究工作。

Tel:(025)85811513 E-mail:songseng@yeah.net

*南京中医药大学02届硕士研究生

制温度、润制压力对蒺藜皂苷元、芒果苷有显著影响。毛知母润制最佳工艺为:润制时间5 h,润制温度60 ℃,润制压力0.07 MPa。结论 减压加温润制适合于毛知母的处理。

关键词:毛知母;润制;蒺藜皂苷元;芒果苷;高效液相色谱

中图分类号:R286.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)11-1670-04

知母为百合科植物知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bunge 的干燥根茎,味苦、甘,性寒,归肺、胃、肾经,是传统的滋阴降火药,为历版《中国药典》所收载,具有清热泻火、生津润燥的功效,临床用于外感热病,高热烦渴,肺热燥咳,骨蒸潮热,内热消渴,肠燥便秘等症状^[1]。知母中含知母皂苷、芒果苷等成分。芒果苷是知母清热作用的有效成分^[2]。蒺藜皂苷元是知母的指标性成分^[3]。目前市场上知母药材有光知母和毛知母两种,其中毛知母外表面密被绒毛。知母在应用于临床前必须经水处理软化以利于切片,大多数饮片企业在水处理知母时使用在常温、常压下进行的普通润制方法,但毛知母外被绒毛,水分难以被药材吸收,常温、常压下普通润制通常需要半天甚至一天的润制时间。为节省生产时间、减少水溶性成分的损失从而保证临床用药的质量,本实验采用减压加温润制法对毛知母的润制工艺进行了研究。本实验通过高效液相法对毛知母中的蒺藜皂苷元和芒果苷进行测定,为筛选最佳水处理工艺提供科学依据。

1 仪器与材料

LC-10ATvp 型高效液相色谱仪(日本岛津);千谱色谱软件系统;Alltech 500 型蒸发光散射检测器;MettlerAG285 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多集团);DZY-6050 型真空干燥箱(上海精宏实验设备有限公司)。

蒺藜皂苷元(批号 110744-20040)、芒果苷(批号 111607-200301)对照品由中国药品生物制品检定所提供;知母药材购自河北省,经我校中药鉴定教研室陈建伟教授鉴定为百合科植物知母 *A. asphodeloides* Bunge 的干燥根茎;甲醇、乙腈为色谱纯,水为重蒸水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 因素水平的确定:将毛知母用湿纱布包裹,放入真空干燥箱中,减压、加温进行润制。结合生产实际选择润制时间(A)、润制温度(B)、润制压力(C)进行减压加温润制工艺考察,其中润制时的温度、压力用真空干燥箱控制。因素水平见表1。

2.2 芒果苷的测定

2.2.1 色谱条件:Kromasil 柱(250 mm×4.6 mm);水-乙腈-0.85%磷酸(100:25:5)为流动相;体积

表1 因素与水平
Table 1 Factors and levels

水平	因素		
	A/h	B/℃	C/MPa
1	5	40	0.07
2	6	50	0.08
3	7	60	0.09

流量为0.6 mL/min;柱温30 ℃;检测波长为258 nm。

2.2.2 对照品溶液的制备:精密称取芒果苷对照品适量,加甲醇制成0.354 mg/mL 的溶液,即得。

2.2.3 供试品溶液的制备:取知母各水处理品,打粉过50 目筛,干燥,取知母各水处理品粉末0.4 g,精密称定,置离心管中,加入70%乙醇15 mL,超声30 min,离心20 min,用吸管吸取置蒸发皿中,如此操作3 次,挥干溶剂,用50%甲醇定容于25 mL 量瓶中。以0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2.4 标准曲线的制备:精密吸取芒果苷对照品溶液0.25、0.5、0.75、1.0、1.25 mL,加甲醇定容至5 mL,在上述色谱条件下重复进样2 次,每次10 μL,测定峰面积值。以峰面积平均值对质量浓度进行回归处理,得回归方程 $Y = 6\,764\,005.65 X - 69\,421.2$, $r = 0.999\,9$ 。结果表明芒果苷在17.7~88.5 μg 与峰面积线性良好。

2.2.5 精密度试验:取同一芒果苷对照品溶液,进样10.0 μL,连续进样5 次,测定,计算芒果苷的质量分数,结果其RSD 为0.34%。

2.2.6 重现性试验:取同一批知母粉末0.1 g,5 份,制备供试品溶液,进样10.0 μL,测定,计算芒果苷的质量分数,结果其RSD 为2.9%。

2.2.7 稳定性试验:取同一供试品溶液,每次进样10 μL,分别在0、2、4、6、8 h 进样测定芒果苷峰面积,结果其RSD 为2.92%。表明供试品溶液在8 h 内稳定。

2.2.8 回收率试验:精密称取同一药材粉末约0.05 g,分别精密加入芒果苷对照品0.308 0、0.384 1、0.460 2 mg,制备供试品溶液,进样测定,计算得芒果苷的平均回收率为97.9%,RSD 为1.05%($n=9$)。

2.2.9 样品测定:取不同减压加温润制方法制备的知母样品粉末约0.1 g,制备供试品溶液,进样10 μL,测定芒果苷峰面积,计算得率。

2.3 菝葜皂苷元的测定

2.3.1 色谱条件: Kromacil 柱(250 mm × 4.6 mm); 甲醇-水(95:5)为流动相; 体积流量为1.0 mL/min; 柱温30℃; 用蒸发光散射检测器检测, 漂移管温度85℃, 载气压力: 0.20 MPa。理论板数按菝葜皂苷元峰计算应不低于4 000。

2.3.2 对照品溶液的制备: 精密称取菝葜皂苷元对照品适量, 加甲醇制成1.96 mg/mL的溶液, 即得。

2.3.3 供试品溶液的制备: 取知母各水处理品, 打粉过50目筛, 干燥, 取知母粉末0.5 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加入乙醇25 mL, 称定质量, 浸泡过夜, 超声处理(功率200 W, 频率30 kHz)40 min, 放冷, 再称定质量, 用乙醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液10 mL, 蒸干, 加水10 mL, 加热回流2 h, 取出, 冷至室温, 边振摇边滴加40%氢氧化钠溶液至溶液颜色由橙黄变为橙红, 用三氯甲烷振摇提取2次, 每次30 mL, 合并三氯甲烷液, 蒸干, 残渣加甲醇溶解, 转移至10 mL量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.3.4 标准曲线及线性范围: 精密吸取菝葜皂苷元对照品溶液0.25、0.5、1.0、1.5、2.0 mL加甲醇定容至5 mL, 在上述色谱条件下重复进样2次, 每次10 μL, 测定峰面积值。以峰面积平均值对质量浓度的对数值进行回归处理, 回归方程为 $Y = 1.60492551X + 2.52818$, $r = 0.9995$, 线性范围为0.98 ~ 7.84 μg。

2.3.5 精密度试验: 取同一菝葜皂苷元对照品溶液进样10 μL, 连续进样5次, 测定菝葜皂苷元峰面积值, 计算菝葜皂苷元的质量分数, 结果其RSD为

1.32%。

2.3.6 稳定性试验: 取供试品溶液, 分别放置0、2、4、6、8 h, 各精密进样10 μL, 测定菝葜皂苷元峰面积, 计算菝葜皂苷元的质量分数, 结果其RSD为2.92%。

2.3.7 重现性试验: 精密称取同批样品5份, 制备供试品溶液, 按上述色谱条件测定, 计算菝葜皂苷元的质量分数, 结果其RSD为2.95%。

2.3.8 回收率试验: 精密称取同一药材粉末约0.25 g($n=6$), 分别精密加入菝葜皂苷元对照品2.67、3.33、4.00 mg, 制备供试品溶液, 按上述色谱条件测定, 采用外标两点法计算得菝葜皂苷元的平均回收率为96.46%, RSD为1.46%。

2.3.9 样品测定: 取不同减压加温润制方法制备的知母样品粉末(过50目筛)约0.5 g, 按制备供试品溶液, 以上述色谱分离条件, 进样10 μL, 测定菝葜皂苷元峰面积, 计算质量分数, 计算得率。

2.4 试验设计与结果分析: 采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验, 以综合加权评分的方法对各炮制品菝葜皂苷元和芒果苷得率2项指标按照1:1进行综合评价, 结果见表2, 方差分析结果见表3。

结果表明, 因素B、C对毛知母中芒果苷、菝葜皂苷元的量有显著的影响, 因素A无显著性影响。毛知母水处理的最佳工艺组合应为 $A_1B_3C_1$, 即润制时间5 h, 润制温度60℃, 润制压力0.07 MPa, 润制温度及润制压力对菝葜皂苷元、芒果苷的量有显著影响。

2.5 验证试验: 重复最佳工艺, 得到样品中菝葜皂苷元、芒果苷平均得率分别为1.679 8%、1.230 2% ($n=3$), 可知最佳工艺选择合理。

表2 正交设计试验结果

Table 2 Results of orthogonal test

序号	A	B	C	D	菝葜皂苷元/%	芒果苷/%	综合加权
1	1	1	1	1	1.915 6	1.019 0	2.934 6
2	1	2	2	2	1.202 4	1.060 1	2.262 5
3	1	3	3	3	1.645 7	1.170 3	2.816 0
4	2	1	2	3	1.407 2	1.048 1	2.455 3
5	2	2	3	1	1.291 9	1.111 8	2.403 7
6	2	3	1	2	1.732 3	1.257 2	2.989 5
7	3	1	3	2	1.355 5	0.937 0	2.292 4
8	3	2	1	3	1.500 0	1.264 8	2.764 7
9	3	3	2	1	1.585 5	1.270 1	2.855 6
I j	8.013 1	7.682 4	8.688 8	8.194 0			
II j	7.848 5	7.431 0	7.573 3	7.544 4			
III j	7.912 7	8.661 1	7.512 2	8.036 0			
R	0.164 6	1.230 1	1.176 6	0.649 5			

表3 方差分析

Table 3 Variance of analysis

方差来源	离差平方和	自由度	方差	F值	显著性
A(误差)	0.004 6	2	0.002 3		
B	0.281 6	2	0.140 8	61.337 4	$P<0.05$
C	0.292 5	2	0.146 3	63.717 6	$P<0.05$
D	0.076 5	2	0.038 3	16.664 4	

$$F_{0.05}(2,2)=19.00 \quad F_{0.01}(2,2)=99.00$$

3 讨论

知母为临床常用药,其有效成分为知母皂苷、芒果苷等。该药物的活性成分研究已进行得较为深入,但研究其炮制方法的文献尚未见报道。本实验选择

了知母中的代表性成分菝葜皂苷元、芒果苷为指标,以减压加温润制的关键指标:润制时间、润制温度、润制压力3个因素,采用正交试验法研究毛知母的减压加温润制工艺,采用多指标综合分析方法对毛知母的减压加温润制工艺进行优选,筛选出毛知母的最佳减压加温润制工艺参数。本实验结果也为进一步制定知母的饮片质量标准提供了参考依据。

参考文献:

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998.
- [2] 邓家刚, 郑作文, 曾春晖. 芒果苷的药效学实验研究[J]. 中医药学刊, 2002, 20(6): 802-803.

HPLC 法测定抗纤丸中黄芩苷

魏智勇, 王俊华, 孙岳枫

(天津市传染病医院, 天津市肝病研究所, 天津 300192)

抗纤丸是天津市传染病医院研制的中药蜜丸剂, 由当归、川芎、赤芍、黄芩等12味中药制成, 具有活血化痰、扶正祛邪, 抗纤维化之功效, 在临床应用近30年, 主要用于治疗慢性肝炎、肝硬化。目前该制剂尚没有专属性的质量控制方法。黄芩具有抗氧化活性, 具有广谱的抗菌和抗病毒作用, 有效成分主要有黄芩苷、黄芩苷元和汉黄芩素等。因此本实验采用HPLC法检测抗纤丸中黄芩苷, 为制定该制剂专属性的质量控制标准提供实验依据。

1 仪器与试药

LabAlliance 高效液相色谱仪, Model 5000 紫外-可见光检测器, Anasstar 色谱工作站, KQ-250E 医用超声波清洗器。

黄芩苷对照品(中国药品生物制品检定所, 批号110715-200212), 抗纤丸(本院制剂室提供), 甲醇为色谱纯, 水为重蒸馏水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法和结果

2.1 色谱条件: Phenomenex C_{18} 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μ m), 流动相: 甲醇-水-磷酸(47:53:0.2), 体积流量为1.0 mL/min, 检测波长为280 nm, 柱温25 $^{\circ}$ C, 进样量20 μ L。

2.2 供试品溶液的制备: 取本品5 g 剪碎, 混匀, 精密称取1.5 g, 置50 mL 量瓶中, 加70%乙醇50 mL,

超声提取30 min, 放冷后加70%乙醇至刻度, 摇匀, 滤过。精密量取续滤液2 mL 于10 mL 量瓶中, 用70%乙醇定容, 摇匀, 用0.45 μ m 滤膜滤过, 即得。

2.3 对照品溶液的制备: 精密称取黄芩苷对照品适量, 用甲醇配制成20 μ g/mL 的溶液, 用0.45 μ m 滤膜滤过, 即得。

2.4 线性关系考察: 精密称取黄芩苷对照品5 mg, 置50 mL 量瓶中, 加甲醇使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为储备液。精密量取储备液0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL, 分别置10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀。按上述色谱条件分别进样20 μ L, 测定。以峰面积为纵坐标, 进样量为横坐标, 得直线方程为 $Y=4.226 \times 10^{-7} X + 7.297 \times 10^{-3}$, $r=0.999 5$, 结果表明黄芩苷在0.1~1.0 μ g 与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 专属性试验: 按抗纤丸生产工艺处方比例, 制得缺黄芩药材的阴性样品, 按供试品溶液的制备方法制备阴性样品溶液。取供试品溶液、对照品溶液和阴性样品溶液适量, 进样测定, 结果阴性样品溶液对测定结果无干扰, 见图1。

2.6 稳定性试验: 取批号20050712 样品制备的供试品溶液, 每隔1 h 进样1次, 连续进样5次, 计算得黄芩苷峰面积的RSD为1.52%。

收稿日期: 2008-03-08

作者简介: 魏智勇(1954—), 男, 副主任药师, 主要从事药品调剂、制剂及药剂科管理工作。

Tel: (022) 27468130 E-mail: weizhiyong1954@126.com