

定,每份按连翘苷质量 1:1 的比例加入连翘苷对照品,制备供试品溶液,进样测定。计算得连翘苷平均回收率为 98.49%,RSD 为 1.12%。

5.10 样品测定:取不同批号的五福化毒丸,剪碎,

每批称定 2 份,每份 6 g,制备供试品溶液,微量注射器准确吸取样品液 10 μ L 注入高效液相色谱仪,进样测定,以外标法计算连翘苷的质量分数。结果见表 1,色谱图见图 5。

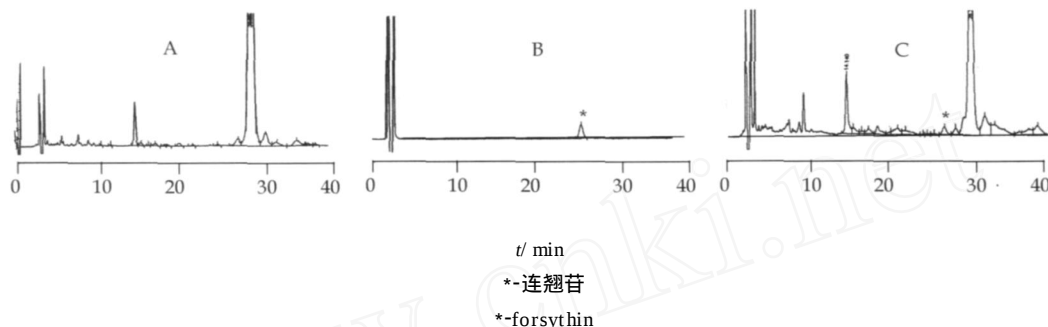


图 5 阴性对照(A)、连翘苷对照品(B)和五福化毒丸(C)的 HPLC 色谱图

Fig 5 HPLC Chromatograms of negative sample (A), forsythine reference substance (B), and Wufu Huadu Pill (C)

6 讨论

本实验采用显微鉴别的方法对五福化毒丸进行显微鉴别,鉴别出全方 11 味中药,排除了干扰,结果较令人满意。明确了对黄连、赤芍确实可行的薄层

色谱鉴别方法。对方中的甘草酸和连翘苷进行了高效液相色谱法的测定,本实验的方法简便可行,结果稳定,重复性好,可以用于五福化毒丸的质量标准的研究。

辛夷鼻炎丸的质量标准研究

黄杰芳,李惠霞,邓慧敏*

(广州中一药业有限公司,广东 广州 510530)

摘要:目的 提高完善辛夷鼻炎丸的质量标准。方法 采用 TLC 法对方中的鹅不食草、苍耳子、防风进行了定性鉴别;采用 HPLC 法测定防风中的升麻素苷进行了测定。结果 在 TLC 图谱中可检出鹅不食草、苍耳子、防风的特征斑点;升麻素苷在 50.02 ~ 1 004.0 μ g 线性良好,精密度试验 RSD 为 1.17% ($n=6$),加样回收率为 101.4%,RSD 为 1.03% ($n=9$)。结论 定性、定量方法简便、准确,能有效控制辛夷鼻炎丸的质量。

关键词:辛夷鼻炎丸;鹅不食草;苍耳子;防风;升麻素苷;薄层色谱;高效液相色谱

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2009)08-1245-03

辛夷鼻炎丸为国家中药保护品种,由辛夷、苍耳子、鹅不食草、防风、甘草等 13 味中药组成,具有祛风清热,消炎解毒之功效。其中苍耳子、鹅不食草、防风为方中主药,用量较大。本实验对鹅不食草、苍耳子、防风进行薄层色谱鉴别,并以高效液相色谱法测定防风中的升麻素苷。方法可靠,重复性好,可为辛夷鼻炎丸的研究提供了定性、定量的检测方法。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 型高效液相色谱仪(自动进样器,二元泵,DAD 检测器);Reprostar 3 薄层色谱摄影仪。

D-101 大孔树脂柱;硅胶 G(青岛海洋化工厂);

鹅不食草(批号 1053-0301)、苍耳子(批号 121168-200503)、防风对照药材(批号 120947-200405)、升麻素苷对照品(批号 111522-200404)均由中国药品生物制品检定所提供;甲醇为色谱纯;水为蒸馏水;其余试剂均为分析纯;辛夷鼻炎丸由广州中一药业有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 鹅不食草的薄层色谱鉴别:取本品 2 g,研细,加醋酸乙酯 20 mL,超声 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加醋酸乙酯 2 mL 使溶解,作为供试品溶液。取鹅不食草对照药材和缺鹅不食草的阴性样品各 2 g,

* 收稿日期:2008-11-27

作者简介:黄杰芳(1982—),女,广东省四会市人,制药助理工程师,广州中一药业有限公司产品开发部工作,研究方向:药品质量标准。
Tel:13570990594 E-mail:zoedeed@hotmail.com

同法制成对照药材溶液和阴性溶液。取供试品溶液 5 μL 和对照药材溶液、阴性对照溶液各 2 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚 (90 ~ 120 $^{\circ}\text{C}$) - 甲苯 - 甲酸 (10 : 20 : 0.5) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 加热至斑点显色清晰。结果供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 见图 1。

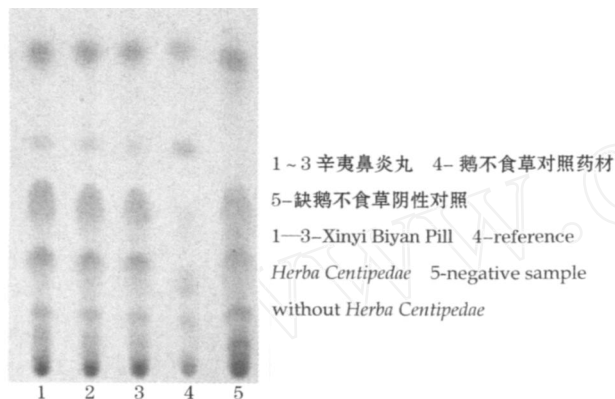


图 1 辛夷鼻炎丸中鹅不食草 TLC 鉴别

Fig. 1 TLC Chromatogram of *Herba Centipedae* in Xinyi Biyan Pill

2.2 苍耳子的薄层色谱鉴别: 取本品 3 g, 研细, 加甲醇 30 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 10 mL 使溶解, 加至已处理好的 D-101 大孔树脂柱上 (内径 10 ~ 15 mm, 长 12 cm), 先用水 100 mL 洗脱, 弃去水洗脱液, 再用 20% 甲醇 50 mL 洗脱, 收集 20% 甲醇洗脱液, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。取苍耳子对照药材 1 g, 同法操作, 加甲醇 0.5 mL 溶解, 制成对照药材溶液。按处方量同法制备缺苍耳子的阴性对照溶液。取上述溶液各 5 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷 - 醋酸乙酯 - 甲醇 - 水 - 甲酸 (3 : 10 : 2 : 2 : 2) [1] 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置碘蒸气中熏至斑点显色清晰。结果供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 见图 2。

2.3 防风的薄层色谱鉴别: 取本品 3 g, 研细, 加丙酮 30 mL, 超声处理 15 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加丙酮 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液 [2]。取防风对照药材 1 g, 同法制成对照药材溶液。按处方量同法制备缺防风的阴性对照溶液。取升麻素苷对照品, 加乙醇制成 0.5 mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。取上述 3 种溶液各 2 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以醋酸乙酯 - 甲酸 - 水 (12 : 2 : 3) 的上层液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯 (254 nm) 下检视。结果供试品色谱中, 在与对照药材及对照品

色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 见图 3。

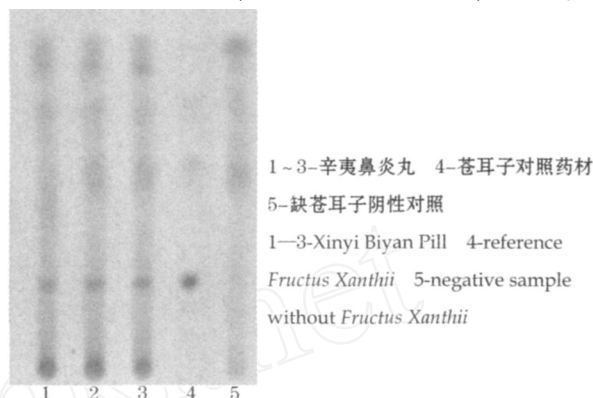


图 2 辛夷鼻炎丸中苍耳子 TLC 鉴别

Fig. 2 TLC Chromatogram of *Fructus Xanthii* in Xinyi Biyan Pill

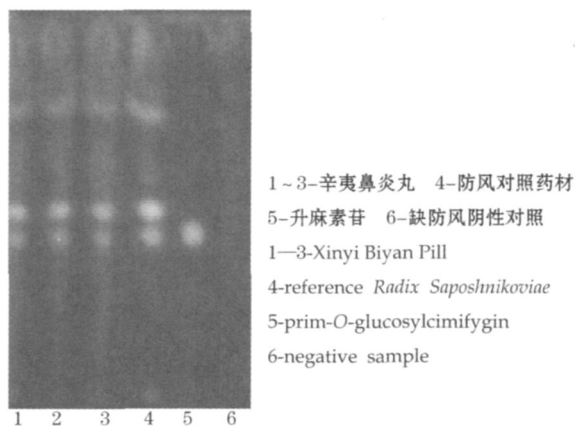


图 3 辛夷鼻炎丸中防风 TLC 鉴别

Fig. 3 TLC Chromatogram of *Radix Saposhnikovia* in Xinyi Biyan Pill

2.4 升麻素苷的 HPLC 法测定

2.4.1 对照品溶液的制备: 取升麻素苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成 0.05 mg/mL 的对照品溶液。

2.4.2 供试品溶液的制备: 取本品, 研细, 混匀, 取 2 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇适量, 超声 20 min (功率 200 W, 频率 45 kHz), 放冷, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 用微孔滤膜 (0.45 μm) 滤过, 取滤液, 即得。按处方量同法制备不含防风的阴性样品溶液。

2.4.3 色谱条件: 采用 Dikma Diamonsil C_{18} 色谱柱 (200 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇 - 0.04 mol/L 乙酸钠 (30 : 70); 检测波长: 254 nm; 进样量: 10 μL 。按升麻素苷峰计算理论板数应不低于 2000。

2.4.4 干扰试验: 取阴性样品、升麻素苷对照品和辛夷鼻炎丸样品溶液进样测定, 色谱图见图 4。可见在此色谱条件下, 阴性对照对测定无干扰。

2.4.5 线性关系考察: 取升麻素苷对照品适量, 加

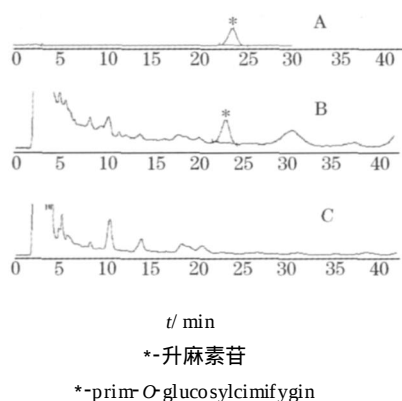


图4 升麻素苷对照品(A)、辛夷鼻炎丸(B)和空白样品(C)的HPLC图

Fig 4 HPLC Chromatograms of pririn O-glucosylcimifygin reference substance (A), Xinyi Biyan Pill (B), and negative sample (C)

甲醇制成含升麻素苷 5.02、10.04、25.10、50.20、75.30、100.40 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液,分别进样 10 μL ,测定。以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标进行回归,得回归方程 $Y = 1552.98703X + 2.65300$, $r = 0.99986$,结果表明升麻素苷在 50.02 ~ 1004.0 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.4.6 稳定性试验:取同一供试品溶液(批号 H00035)于 0、0.5、1、1.5、2、2.5、3.5、24 h 进样,按升麻素苷的峰面积计算,RSD 为 0.73%,表明升麻素苷在 24 h 内基本稳定。

2.4.7 重现性试验:取批号 H00035 样品 6 份,制备供试品溶液,按上述色谱条件测定,根据峰面积计算升麻素苷质量分数为 1.21 mg/g,RSD 为 1.17%。

2.4.8 加样回收率试验:取辛夷鼻炎丸(批号 H00035,含升麻素苷 1.21 mg/g)约 1 g,精密称定,分 3 组,分别精密加入 0.2368 mg/mL 升麻素苷对照品溶液 4.5、5.0、5.5 mL,制备供试品溶液,测定,计算得平均回收率为 101.4%,RSD 为 1.03% ($n=9$)。

2.4.9 样品的测定:取 10 批辛夷鼻炎丸,制备供试

品溶液。分别精密吸取升麻素苷对照品溶液及供试品溶液各 10 μL ,进行 HPLC 分析,测定结果见表 1。

表 1 辛夷鼻炎丸中升麻素苷的测定结果 ($n=2$)

Table 1 Determination of pririn O-glucosylcimifygin in Xinyi Biyan Pills ($n=2$)

批号	升麻素苷/(mg·g ⁻¹)	批号	升麻素苷/(mg·g ⁻¹)
F00095	0.78	G00203	1.01
F00080	0.92	H00028	1.36
F00090	1.02	H00034	1.43
G00111	1.11	H00036	1.22
G00131	1.13	J00022	0.96

3 讨论

3.1 本品薄层色谱鉴别不受样品中其他药味的干扰,专属性强,操作简便,可作为本品定性鉴别。

3.2 测定波长的选择:取升麻素苷对照品溶液在 190 ~ 400 nm 波长扫描,结果在 214、246、300 nm 处有最大吸收,参考《中国药典》2005 年版一部防风项下的测定波长,采用 254 nm 为检测波长。

3.3 提取条件的选择:选用甲醇和丙酮作提取溶剂进行比较,结果表明采用甲醇提取,样品中升麻素苷的量明显比采用丙酮提取的高,故选用甲醇作提取溶剂。在试验中采用超声 15、20、30、40 min 进行比较,结果表明 20 min 以后,延长超声时间对提取方法基本无影响,为了提高效率,故选择超声 20 min。

3.4 流动相的选择:曾试用水-甲醇(60:40)^[3]、0.04 mol/L 乙酸钠-甲醇(70:30)作为流动相,结果发现采用流动相水-甲醇(60:40)时,样品色谱中主峰与杂峰很难达到基线分离,以采用流动相 0.04 mol/L 乙酸钠-甲醇(70:30)时样品色谱峰分离好,故采用 0.04 mol/L 乙酸钠-甲醇(70:30)作为流动相。

参考文献:

- [1] 尹靖先,邓晓鸿,车晓彦,等. 苍耳子的薄层层析鉴别研究[J]. 华西药理学杂志, 2005, 20(1): 67-69.
- [2] 中国药典[S]. 一部. 2005.
- [3] 丘文珍. HPLC 法测定辛夷鼻炎丸中升麻素苷和 5-O-甲基维斯阿米醇苷的含量[J]. 中草药, 2003, 34(5): 422-424.

HPLC-ELSD 法测定补血颗粒中黄芪甲苷

朱虹云¹,徐文峰^{1*},刘帅英²

(1. 丽水市中心医院,浙江 丽水 323000; 2. 丽水市食品药品检验所,浙江 丽水 323000)

摘要:目的 建立补血颗粒中黄芪甲苷的测定方法。方法 应用超声提取和高效液相色谱-蒸发光散射检测器(HPLC-ELSD)检测,采用 Hypersil ODS 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);柱温 30 $^{\circ}\text{C}$;流动相:乙腈-水(35:65);

* 收稿日期:2009-01-09

作者简介:朱虹云(1961—),女,浙江丽水人,主管药师,研究方向为医院药学。

*通讯作者 徐文峰 Tel: (0578)2681481 E-mail: lxxwz67@yahoo.com.cn