

壮阳春滴丸质量标准研究

★ 车庆珍 (江苏省徐州医药高等专科学校 徐州 221116)

★ 袁绍莉 张金炼 (江苏省徐州颐海制药厂 徐州 221006)

关键词:壮阳春滴丸;黄芪甲苷;薄层色谱;高效液相色谱

中图分类号:R 284.1 文献标识码:B

壮阳春滴丸是由黄芪、何首乌、枸杞子等7味中药组成,具有补肾壮阳、益精补虚的作用。该药成分复杂,为了有效控制本品的内在质量,对方中黄芪、何首乌、枸杞子进行薄层定性鉴别,并改进试验条件,对其中主要有效成分黄芪甲苷采用高效液相色谱法进行含量测定,方法简便、灵敏、可靠。

1 仪器与试剂

Waters515 高效液相色谱仪, Breeze 色谱工作站, 蒸发光散射检测器(ELSD2000)。乙腈为色谱纯;水为重蒸水;其它试剂为分析纯。黄芪甲苷(供含量测定用)、大黄素、枸杞子对照药材、黄芪对照药材(均为供鉴别用)均购自中国药品生物制品检定所,壮阳春滴丸由江苏颐海药业有限责任公司提供。

2 薄层定性鉴别

2.1 黄芪 TLC 鉴别^[1] 取本品适量,研细,称取5.0 g,置索氏提取器中,加无水乙醇60 mL,水浴回流提取6小时,提取液蒸干,残渣加0.5% NaOH 溶液30 mL 使溶解,滤过,滤液用稀盐酸调节 pH 至3~4,用乙酸乙酯振摇提取3次,每次30 mL,合并乙酸乙酯提取液,用底部铺有少量无水硫酸钠的滤纸滤过,置水浴上蒸干,残渣加乙酸乙酯1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取黄芪对照药材1.0 g,加无水乙醇30 mL,同法制成对照药材溶液。再取缺黄芪阴性样品5 g,同法制成阴性对照溶液。分别吸取上述对照药材溶液5 μ L、供试品溶液10~20 μ L、

阴性对照溶液10~20 μ L,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯(9:5)为展开剂,展开,取出,晾干,置氨蒸气中熏后置紫外光灯(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,阴性对照无相应斑点。

2.2 何首乌 TLC 鉴别^[2,3] 取大黄素对照品适量,加乙酸乙酯制成每1 mL 含1 mg 的溶液,作为对照品溶液,另取缺何首乌阴性样品,按黄芪鉴别项下供试品溶液制备法制成阴性对照溶液,分别吸取上述对照品溶液5 μ L、黄芪鉴别项下供试品溶液10~20 μ L、阴性对照溶液10~20 μ L,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯(5:2)为展开剂,展开,取出,晾干,置氨蒸气中熏后观察,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同的红色斑点。而阴性样品中无相应的斑点。

2.3 枸杞子 TLC 鉴别^[4] 取枸杞子对照药材1.0 g,加水30 mL 煮沸45分钟,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣按黄芪鉴别项下供试品溶液制备方法,自“残渣加0.5% NaOH 溶液30 mL 使溶解”起,依法制备,即得对照药材溶液。另取缺枸杞子阴性样品,同法制成阴性对照溶液。吸取上述对照药材溶液、黄芪鉴别项下供试品溶液和阴性对照溶液各5~10 μ L,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G

此条件下盐酸小檗碱与其他组分不能达到基线分离。

3.2 检测波长的选择 采用高效液相色谱仪二极管阵列检测器的波长扫描功能,进行波长扫描,发现盐酸小檗碱在264 nm 处有最大吸收,故采用264 nm 为盐酸小檗碱的检测波长。

3.3 提取方法的选择 作者分别用甲醇、50% 甲醇、甲醇-盐酸(100:1)等作为溶剂,照含量测定项下操作,结果用甲醇-盐酸(100:1)作为提取溶剂其含量测定值较高,且超声20分钟即可提取完全,且盐酸小檗碱与样品中其他峰基线分

离。

参考文献

- [1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005. 289~290
- [2] 孙光文, 胡华明, 杨先哲, 等. HPLC 测定黄连膏中小檗碱的含量[J]. 中成药, 2004, 26(10): 附 25~26
- [3] 林志华, 宋敏, 李苗. 反相高效液相色谱法测定黄连及制剂中小檗碱的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2004, 24(12): 738~73

(收稿日期:2006-08-05)

薄层板上,以三氯甲烷-甲醇(10:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365nm)下检视,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同的亮蓝色荧光斑点。阴性对照色谱无相应斑点。

3 含量测定

3.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱:大连 Elite Hypersil ODS 柱(200 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(35:65);流速:1.0 mL/min;ELSD 参数:漂移管温度:99.3 ℃,载气流速:2.8 L/min。

3.2 溶液的制备

3.2.1 对照品溶液 精密称取黄芪甲苷对照品适量,加流动相溶解制成每 1 mL 含 80 μg 的溶液。

3.2.2 供试品溶液 取本品约 5.0 g,精密称定,置索氏提取器中,加甲醇 50 mL 回流提取 4 小时,提取液浓缩蒸干,残渣加水适量转移至处理好的 D101 大孔吸附树脂柱中,用水 40 mL 洗脱,弃去水洗脱液,继用 40% 乙醇 50 mL 洗脱,弃去 40% 乙醇洗脱液,再用 70% 乙醇 60 mL 洗脱,收集 70% 乙醇洗脱液,置水浴上蒸干,残渣加甲醇 2 mL 使溶解,作为供试品溶液。

3.2.3 阴性对照溶液 取缺黄芪的阴性样品,同供试品溶液制备方法,制备阴性对照溶液。

3.3 方法与结果

3.3.1 线性关系考察 精密称定 80 ℃ 减压干燥至恒重的黄芪甲苷对照品适量,加流动相制成每 1 mL 含 0.502 mg 的溶液。分别精密吸取 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mL 置 10 mL 量瓶中,加流动相稀释至刻度。各精密吸取 20 μL,分别注入液相色谱仪,测定,测得峰面积。对峰面积与进样量进行直线回归处理。即以进样量的对数与峰面积积分值的对数作线性关系。得回归方程 $y = 1.290x + 4.881$, $r = 0.9999$ 。表明黄芪甲苷进样量在 0.502~3.012 μg 之间与积分值呈线性关系。

3.3.2 空白试验 分别精密吸取黄芪甲苷对照溶液、样品溶液和阴性对照溶液各 20 μL,分别进样测定,可见黄芪甲苷峰位在 9 分钟左右,样品溶液有同样的吸收峰,而空白溶液在相应位置无吸收。

3.3.3 稳定性试验 按样品溶液制备方法制得供试溶液,精密吸取供试品溶液 20 μL 注入液相色谱仪测定。分别于 0、1、4、8、12 及 24 小时后测定一次。结果峰面积的 RSD 为 1.9%。表明供试溶液至少在 24 小时内稳定。

3.3.4 精密度试验 精密吸取黄芪甲苷对照品溶液 20 μL,连续进样 5 次。峰面积积分值 RSD 达

1.2%。

3.3.5 加样回收率试验 用加样回收试验方法,取已知黄芪甲苷含量的同批样品各 6 份,精密称定,分别精密加入黄芪甲苷对照品溶液(浓度 0.23 mg/mL)各 1 mL,按供试溶液制备方法,制备供试溶液,依法测定,计算回收率。结果平均回收率为 100.3%。RSD=1.3%。

3.3.6 重复性试验 精密称取 5 份同一批次样品,分别制备供试品溶液,依法测定,样品含量值依次为:0.531 mg/g、0.529 mg/g、0.539 mg/g、0.533 mg/g 及 0.541 mg/g, RSD 为 2.7%。

3.3.7 样品测定 分别精密吸取对照品溶液 10、20 μL 和供试品溶液 20 μL,注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定,记录色谱峰面积,按外标两点法计算,即得。测定三批样品含量,结果见表 1。

表 1 三批样品的含量测定结果

批号	取样量/g	峰面积	含量/mg·g ⁻¹
20060301	9.102	96411	0.532
20060305	9.501	88981	0.511
20060306	10.210	95400	0.509

4 讨论

本品由 7 味药组成,我们选择了重现性好,可操作性强的三味建立了薄层层析鉴别。黄芪、枸杞子、何首乌的指标成分具有相似的溶解性能^[5],在提取上采用了同样的工艺方法和条件,相对简便、快捷,节约了检验成本。

据文献报道^[6],检测黄芪甲苷,可采用紫外检测器、二极管阵列检测器、蒸发光散射检测器等。采用紫外检测器基线漂移较严重,系统精密度差,不适于定量。使用 ELSD 法消除了溶剂和基线不稳定的影响,黄芪甲苷含量准确度高,重现性好。而黄芪甲苷化学性质相对稳定,在较高温度时,不会发生变性分解现象。说明黄芪甲苷适合于 HPLC-ELSD 法检测。

参考文献

- [1] 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京:化学工业出版社,2005. 212
- [2] 潘馨. 健男春质量标准研究[J]. 海峡药学,1996,8(3):10~12
- [3] 张素艳,王玉珏. 骨友灵擦剂中延胡索和何首乌的薄层鉴别研究[J]. 沈阳药科大学学报,1996,13(1):164~166
- [4] 龙天游,余之江. 腰痛扶正胶囊中三味主药的薄层色谱鉴别[J]. 中药材,1996,19(5):257~258
- [5] 匡海学. 中药化学[M]. 北京:中国中医药出版社,2003
- [6] 席枝侠. 反相高效液相色谱法测定黄芪虫口口服液中的黄芪甲苷含量[J]. 中国医药杂志,2002,22(8):648~649

(收稿日期:2006-07-20)