

首当颗粒剂质量标准的研究

黄宗玉 樊 坚 周芝芳¹(杭州 310004 浙江省药品检验所;¹ 杭州 310013 浙江省医学科学院药物研究所)

摘要 目的:建立首当颗粒剂的质量控制方法。方法:用薄层层析法对其中的炒当归、补骨酯和陈皮进行定性鉴别,用高效液相色谱法对其中的指标成分大黄素进行了定量测定。紫外检测波长为 $\lambda_{436\text{nm}}$ 。结果:线性范围 $0.02 \sim 0.2\mu\text{g}$,平均回收率为 101.1% ($n=5$), RSD 为 1.20% 。结论:鉴别和含量测定方法中各阴性对照品均无干扰,含量测定方法灵敏度高,重现性好,可作为该制剂的质量控制标准。

关键词 首当颗粒剂;薄层色谱法;高效液相色谱法;制首乌;炒当归;大黄素

Quality control of Shoudang Granules

Huang Zongyu (Huang ZY), Fan Jian (Fan J), Zhou Zhifang (Zhou ZF) (Zhejiang Institute for the Control Drugs, Hangzhou 310004)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** A quality control method was established for Shoudang granules. **METHODS:** Its ingredients angelica sinensis diels, psoralen and citrus reticulata blanco were identified by TLC. A HPLC method for determining emodin, the mark ingredients in the granules, was established. Detective wavelength was 436nm . **RESULTS:** The method was linear within the range of $0.02 \sim 0.2\mu\text{g}$, the average recovery was 101.1% , and the RSD was 1.20% . **CONCLUSION:** The method is sensitive and highly reproducible, and may be used for the quantitative determination of the granules.

KEY WORDS Shoudang Granules, TLC, HPLC, polygonum multiflorum, angelica sinensis diels, emodin

首当颗粒剂是由制首乌,炒当归,补骨酯和陈皮等16味中药,加温动态提取制成的三类新药,具有补肝

肾,益精血,强筋骨等功能,药效学研究及临床试验均表明在提高精子活力,治疗男性不育症方面确有疗效。

本文通过试验,建立了薄层色谱法和高效液相色谱法的定性、定量分析方法,以控制制剂的质量。

1 仪器与药品

Waters 高效液相色谱仪,备有 490 可变波长检测器与 820 数据工作站;上海必能达超声振荡器;阿魏酸、补骨酯和异补骨酯素,橙皮甙和大黄素对照品(中国药品生物制品检定所),大黄素经 HPLC 归一化法测得含量为 99.93%;成药(浙江省医学科学院);硅胶 G(山东海洋化工厂);甲醇为色谱纯,其它试剂均为分析纯。

2 薄层定性鉴别

2.1 炒当归的鉴别

取样品 2g,加甲醇 20ml,超声处理 30min,滤过,取滤液蒸干,残渣加水 25ml,加热溶解,放冷,用醋酸乙酯提取 2 次,每次 10ml,提取液蒸干,残渣加甲醇 1ml 溶解作为供试品溶液。原方缺炒当归按比例配方,照上述方法制成阴性对照溶液,另取阿魏酸对照品,加甲醇溶解制成每 1ml 含 1mg 的溶液。分别吸取上述 3 种溶液各 2 μ l,点于同一硅胶 G 薄层板上,以苯-醋酸乙酯-冰醋酸(9:0.5:0.5)为展开剂,展距为 8cm,晾干,喷以 2% 铁氰化钾-2% 三氯化铁(1:1)50% 乙醇溶液。供试品在与对照品相应位置上有同一蓝色斑点。阴性对照试验表明,其它药材对此鉴别无干扰,见图 1。

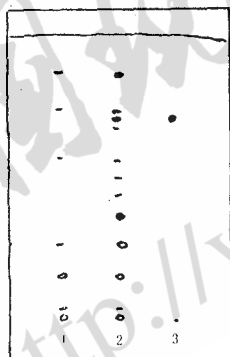


图 1 炒当归薄层色谱图

1- 阴性对照;2- 供试品;3- 阿魏酸对照品

2.2 补骨酯的鉴别

取本品 5g,加醋酸乙酯 20ml,盐酸 0.5ml,超声处理 20min,滤过,滤液挥干,残渣加醋酸乙酯 0.5ml 溶解,作为供试品溶液。原方缺补骨酯,按比例配方,照上述方法制成阴性对照溶液,另取补骨酯素和异补骨酯素对照品,加醋酸乙酯分别制成每 1ml 中含 2mg 的溶液,作为对照品溶液。吸取上述供试品溶液和阴性对照溶液各 2 μ l,2 种对照品溶液各 1 μ l,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以正己烷-醋酸乙酯(8:2)为展开剂,展距 8cm,取出晾干,置紫外光灯(365nm)下检视。

供试品在对照品相应位置上有呈相同颜色的荧光斑点,阴性对照试验表明,其它药材对此鉴别无干扰,见图 2。



图 2 补骨酯薄层色谱图

1- 阴性对照;2- 补骨酯素对照品;3- 异补骨酯素对照品;4- 供试品

2.3 陈皮的鉴别

取炒当归鉴别项下的供试品溶液,缺陈皮对照样品同 2.1 制成阴性对照液。另取橙皮甙对照品,加甲醇制成饱和溶液作为对照品溶液。吸取供试品溶液,阴性对照溶液和对照品溶液各 4 μ l 分别点于用 1% 氢氧化钠溶液制备的硅胶 G 薄层板上,以醋酸乙酯-甲醇-水(100:17:3)为展开剂,展距 3cm,取出晾干。再以甲苯-醋酸乙酯-甲酸-水(20:10:1:1)的上层溶液为展开剂,展距 8cm,取出晾干,喷以 1% 三氯化铝试液,置紫外光灯(365nm)下检视,供试品在与对照品相应的位置上,呈相同颜色的荧光斑点,阴性对照试验表明其它药材无干扰,见图 3。

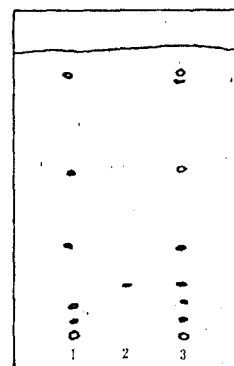


图 3 陈皮薄层色谱图

1- 阴性对照;2- 橙皮甙对照品;3- 供试品

3 含量测定

3.1 色谱条件

色谱柱 C_{18} (μ bondapak 10 μ m 4.0 $\times$ 250mm),流动相:甲醇-水(75:25),检测波长:436nm,流速:1ml/min。

3.2 测定方法

3.2.1 对照品溶液的配制:精密称取经五氧化二磷减压干燥至恒重的大黄素对照品适量,加甲醇制成每 1ml 含 4 μ g 大黄素溶液。

3.2.2 供试品和阴性对照样品溶液的制备:取供试品和缺制首乌对照品各 2g,分别置具塞锥形瓶中,加甲醇 50ml,超声处理 30min,滤过,滤渣用甲醇洗 2 次,每次 10ml,合并滤液,蒸干,加水 20ml,溶解转移至烧瓶中,加硫酸 1ml 和氯仿 20ml,回流 1h,取氯仿层,水层用氯仿提取 2 次,每次 20ml,合并氯仿层,在 40 $^{\circ}$ C 减压蒸干,残渣用甲醇洗至 5ml 量瓶中,用 0.5 μ m 滤膜滤过,分别作为供试品和阴性对照溶液。

3.2.3 线性关系考察:精密吸取对照品溶液 5, 10, 20, 30, 40 和 50 μ l 注入液相色谱仪中,记录色谱图,大黄素对照品进样量 X 为横坐标,相应的峰面积积分值 Y 为纵坐标,绘制标准曲线,并计算回归方程,见表 1。

表 1 进样量和峰面积关系

进样量(μ g)	0.02	0.04	0.08	0.12	0.16	0.20
峰面积 $\times 10^6$	2.04	3.99	7.83	11.9	15.5	19.3
回归方程	$Y = 96038356.2X + 169369.7, r = 0.9999$					

在 0.02~0.2 μ g 范围内进样量与峰面积呈良好的线性,检出限为 0.004 μ g。

3.2.4 制首乌含量测定:取市售制首乌 3 批,粉碎,称取 0.5g 按上述方法提取,制备,测定结果见表 2。

表 2 制首乌中大黄素含量

批 号	称样(g)	含量(μ g)
1	0.5131	20.21
2	0.4672	19.49
3	0.5510	21.12

3.2.5 样品测定:取上述供试品和缺制首乌对照品溶液,分别进样 20 μ l 至色谱仪,流出色谱图分别见图 4, 5, 其它药材不干扰大黄素的测定,结果见表 3。

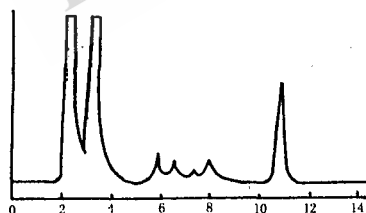


图 4 供试品色谱图

3.3 加样回收率试验

称取已测大黄素含量的样品 5 份,精密加入浓度为 0.0428mg/ml 大黄素对照品溶液 0.5ml,按上述样品制备法制成供试品溶液 10ml,测定结果见表 4,平均回

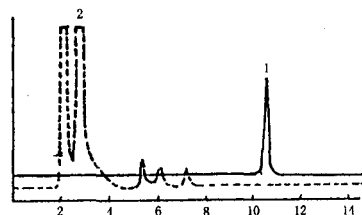


图 5 对照品和阴性对照品色谱图

1 - 大黄素对照品; 2 - 阴性对照品

表 3 样品含量测定结果

批 号	每袋含量(μ g)		平均含量(μ g)
960618	58.4	59.2	58.8
960619	41.9	41.4	41.7
960620	37.7	38.2	38.0

收率为 101.1%, $RSD = 1.1\%$ ($n = 5$)。

表 4 加样回收率

称样量(g)	加入量(μ g)	测得量(μ g)	回收率(%)
1.9886	21.4	21.44	100.2
2.0085	21.4	21.82	102.0
2.0002	21.4	21.48	100.4
1.9890	21.4	21.96	102.6
1.9786	21.4	21.48	100.4

3.4 测定方法的重现性和精密度

精密称取同批样品,按上述方法制备供试品溶液,测定 5 次,测定结果平均为 7.77 μ g/g, $RSD = 0.3\%$ 。同批样品在第 1, 35, 6, 7 和 8 天测定含量,结果平均为 7.86 μ g/g, $RSD = 0.5\%$ 。以上试验证明该测定方法重现性和精密度均良好。

4 讨 论

4.1 提取溶剂的选择:比较了用 70% 甲醇溶液和 100% 甲醇超声提取方法,结果用 70% 甲醇溶液提取,引入较多水溶性杂质,干扰大黄素的色谱分离,可能与本品提取工艺相关,选择了 100% 甲醇提取。

4.2 水解条件的选择:考察了加硫酸和醋酸,氯仿和回流时间。择优选择在氯仿存在时,用硫酸回流 1h,结合型蒽醌即可水解完全。

4.3 君药制首乌中主要的蒽醌类成分是游离型和结合型的大黄素,本方法选择的样品处理法可提取游离型和结合型的大黄素,也适用于药材制首乌。

参考文献

- 1 中国药典. 1995: 109, 382, 560.
- 2 大岛俊幸, 平山总良, 齐藤文孝, 等. 高效液相法测定何首乌和夜交藤中蒽醌类成分的含量. 药物分析杂志, 1996, 16

(4):219.

- 3 陈定一,王静竹,赵现红,等.高效液相色谱法测定大黄及其炮制品中总大黄素的含量.中国中药杂志,1994,19(9):583.

- 4 李建北,林茂,等.何首乌化学成分的研究.中草药,1993,24(3):115.

收稿日期:1997-07-23