

体”。根据图 1 曲线,粘度随浓度变化进入趋势增加较快的范围内的粘度约在  $200 \text{ mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  左右,所以界定大于  $200 \text{ mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  为“粘稠液体”。

上述分类和界定均以粘度值为依据,不过所述的粘度值只是广义宽泛的界定,不是绝对的,供实验操作或设计时参考。

#### 4 讨论

4.1 使用移液管取样时,相对密度与取样误差并非完全相关,而粘度与取样误差存在相关性。如三氯甲烷属其相对密度(约 1.477)大,但粘度小,易流动,而月桂氮 酮粘度(约  $33 \text{ mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ )大而相对密度(约 0.916)小<sup>[6]</sup>,分取样品应该根据被分析物的理化特性进行科学的试验设计。

尽管如此,与相对密度相近概念的比重在液体取样方案中是十分重要的,利用比重的测定结果,可将采用称量的办法取样经折算消除移液管取液引起的体积误差。

4.2 液体样品由于有一定的粘度,可能使分液取样的误差增加,需要重视。不仅仅是液体样品在实验过程中需要考虑粘度对分析结果准确性的影响,即使是固体制剂,经过相应的具有一定粘度的溶剂处理后,也要注意粘度给测定结果带来的可能的误差,如含有大量高分子材料的固体制剂在溶出介质中可能形成具有一定粘度的液体,是否影响测定结果的准确性需要单独考察,尤其是固体制剂在含量测定等前处理过程中,如果使用了大极性溶剂提取,滤液的粘度要考察,也可以用刻度移液管简单初试,如果流出时间超过移液管标化时规定的时间,则需引起注意。

4.3 内容量移液管需要自己标化,推荐选择刻度吸

量管,因其材质和形状具有可操作优势。内容量移液管的标化可参考文献方法<sup>[12]</sup>。根据美国药典的要求,内容量移液管也可以用相应规格的容量瓶代替使用,使用容量瓶可能更方便。

4.4 随着移液器在我国分析领域应用的增多,我国对此类分液取样的设备的检定和标化工作滞后,需要认真研究制定相应的标准和方法。

4.5 对方中加入助悬剂或增稠剂的液体样品需要格外注意,确定取样方案时要考察其粘度,以决定如何取样。对于加入的助悬剂或增稠剂的确定可参考相应的药用辅料专著以及美国药典序言中所列助悬剂或增稠剂名录。

#### 参考文献

- [1] 张莉,刘红云,乐其新. 对粘稠液体含量测定中取样方法的修改意见,中国兽药杂志, 2006, 40(11): 42-44.
- [2] 张英英,蒋斌. 称量换算体积代替刻度移液管示值体积在标准曲线制作中的应用[J]. 浙江预防医学, 2007, 19(5).
- [3] 常用玻璃量器,中华人民共和国国家计量检定规程[S]. JJG 196-2006
- [4] 《美国药典》. 2007(BP2007).
- [5] 《美国药典》. 31NF26(USP31NF26).
- [6] 国家药典委员会.《中国药典》. 2005年版[S].
- [7] 常用玻璃量器,中华人民共和国国家计量检定规程, JJG 196-2006.
- [8] 魏德孚. 液体粘度的推算法[J]. 大连工学院学报, 1955.
- [9] 药典注释.《中国药典》. 1990年版二部[S]. 北京: 化学工业出版社, 1993: 1020.
- [10] W S-649-(X-517)-98(试行)标准.
- [11] 钟静芬. 表面活性剂在药学中的应用[J]. 北京: 人民卫生出版社, 1996(1): 264
- [12] Graduated pipettes calibrated to contain Testing Instructions (SOP), BLAUBRAND® Volumetric Instruments and Density Bottles Conformity Certified, September 2000, page 8.

## 醒脑再造丸质量标准研究

吴庆森<sup>1,2</sup>, 吴立军<sup>1</sup>, 杨志伟<sup>2</sup> (1. 沈阳药科大学, 沈阳 110016 2. 吉林省松原市食品药品检验所, 松原 138000)

**摘要** 目的: 建立醒脑再造丸(黄连、冰片、木香等)的质量标准。方法: 采用 TLC 法鉴别处方中的黄连、冰片和木香; 用 HPLC-ELSD 法测定黄芪中黄芪甲苷的含量, 色谱柱 Phenomenex Gemini C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈-水 (36:64); 流速为  $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ; 漂移管温度为  $105 \text{ }^\circ\text{C}$ ; 载气流速:  $2.7 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ 。结果: TLC 法鉴别色谱特征斑点明显, 黄芪甲苷在  $0.486 \sim 2.43 \mu\text{g}$  范围内呈线性关系,  $r = 0.9997$ ; 平均回收率为  $101.7\%$  ( $n = 6$ ),  $\text{RSD} = 0.5\%$ 。结论: 所建立的 TLC 和

基金项目:《中国药典》2010年版一部标准研究课题。

作者简介: 吴庆森, 男, 药师。学科及研究方向: 天然药物化学。联系电话: 13614389018。

HPLC-ELSD方法操作简便,结果准确,重复性好,可用于醒脑再造丸的质量控制。

关键词:醒脑再造丸;TLC;HPLC-ELSD;黄连;冰片;木香;黄芪甲苷

中图分类号:921.2 文献标识码:A 文章编号:1009-3656(2010)-1-25-5

## Quality Standard of Xingnao Zaizao Pills

Wu Qing-miao<sup>1,2</sup>, Wu Li-jun<sup>1</sup>, Yang Zhirwei<sup>2</sup> (1. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016 2. Songyuan Institute for Food and Drug Control of Jilin Province, Songyuan 138000)

**Abstract Objective** To establish a quality standard of Xingnao Zaizao Pills (Rhizoma coptidis Bomeolum, syntheticum, Radix Aucklandae etc.). **Methods** Rhizoma coptidis Bomeolum syntheticum, and Radix Aucklandae were identified by TLC. HPLC-ELSD Separation was achieved on a Phenomenex Gemini C<sub>18</sub> Column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) and mobile phase composed of acetonitrile-water (36:64); Flow rate 1.0 mL min<sup>-1</sup>; Drift tube temperature 105 °C; Gas flow rate 2.7 L min<sup>-1</sup>. **Results** The developed TLC spots were quite clear. The calibration curve was linear in the range of 0.486 ~ 2.43 μg (r = 0.9997); The average recovery rate was 101.7% (n = 6), RSD was 0.5%. **Conclusion** The established TLC and HPLC-ELSD methods are simple, accurate and reproducible, thus can be useful in quality control of Xingnao Zaizao Pills.

**Key Words** Xingnao Zaizao Pills; TLC; HPLC-ELSD; Rhizoma coptidis Bomeolum syntheticum; Radix Aucklandae; Astrabside

醒脑再造丸收载于卫生部药品标准(中药成方制剂第四册)<sup>[1]</sup>,由黄芪、淫羊藿、石菖蒲、红参、当归、地龙等36味中药组成,具有化痰醒脑,祛风活络的功效。用于神志不清,语言蹇涩,肾虚痿痹,筋骨酸痛,手足拘挛,半身不遂。该标准中无定性鉴别及定量指标,为了有效地控制该制剂的质量,保证临床疗效,参照《中国药典》2005年版一部中黄连、冰片和木香的TLC鉴别方法、黄芪中黄芪甲苷的含量测定方法<sup>[2]</sup>,本文建立了薄层色谱法对黄连、冰片、木香进行定性鉴别,采用高效液相色谱法-蒸发光散射检测器法对黄芪中黄芪甲苷进行含量测定,为该产品的质量控制在提供客观的定性定量评价方法。

### 1 仪器与试剂

日本岛津LC-10AT VP高效液相色谱仪,日立ALLTECH ELSD2000型蒸发光散射检测器;SPD-10AT VP型自动进样器。乙腈为色谱纯;水为纯化水;其他试剂均为分析纯。硅胶板为预制板(青岛海洋化工有限责任公司);黄连对照药材(批号101512-200702),冰片对照药材(批号743-8902),木香对照药材(批号120921-200506),黄芪甲苷对照品(批号110781-200512)均购自中国药品生物制品检定所。

醒脑再造丸样品(生产厂家提供,批号分别为20050903,061101,061202)。

### 2 薄层鉴别

#### 2.1 黄连的薄层色谱鉴别

取本品1丸,剪碎,加硅藻土8g研匀,加甲醇50 mL,加热回流15 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇1 mL使溶解,作为供试品溶液。另取黄连对照药材50 mg,加甲醇5 mL,加热回流15 min,滤过,滤液补加甲醇使成5 mL,作为对照药材溶液。再取盐酸小檗碱对照品,加甲醇制成每1 mL含0.5 mg的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2005年版一部附录VI B)试验,吸取供试品溶液5 μL,对照药材溶液、对照品溶液各1 μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯-异丙醇-甲醇-水(6:3:1.5:1.5:0.3)为展开剂,置氨蒸气饱和的展开缸内,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材及对照品色谱相应的位置上,显相同的黄色荧光斑点,且阴性对照无干扰。(见图1)。

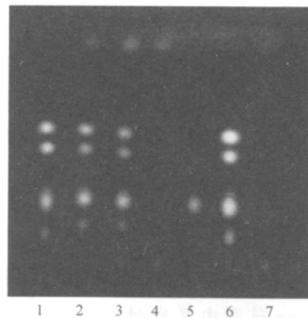


图1 黄连薄层色谱图

1. 黄连对照药材; 2. 样品(20050903); 3. 样品(061202); 4. 样品(061101); 5. 对照品; 6. 黄连对照药材; 7. 阴性对照

## 2.2 冰片的薄层色谱鉴别

取本品 1 丸, 剪碎, 加硅藻土 8 g 研匀, 加乙醚 50 mL, 超声处理 5 分钟, 滤过, 滤液挥干, 残渣加乙酸乙酯 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取冰片对照品, 加乙酸乙酯制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取供试品溶液 8  $\mu$ L, 对照品溶液 4  $\mu$ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-乙酸乙酯(19:1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 1% 香草醛硫酸溶液, 在 110  $^{\circ}$ C 加热数分钟, 供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 且阴性对照无干扰。(见图 2)。

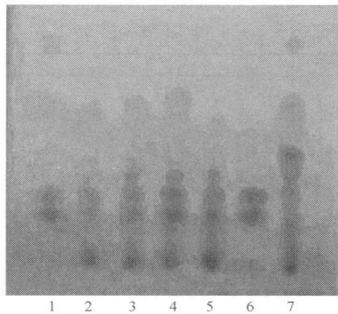


图 2 冰片薄层色谱图

1. 对照品; 2. 5 样品 (20050903); 3. 样品 (061202); 4. 样品 (061101); 6. 对照品; 7. 阴性对照

## 2.3 木香的薄层色谱鉴别

取本品 1 丸, 剪碎, 加硅藻土 8 g 研匀, 加三氯甲烷 50 mL, 加热回流 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加乙酸乙酯 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取木香对照药材 1 g 加三氯甲烷 15 mL, 同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 VI B) 试验, 吸取上述两种溶液各 4  $\mu$ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以环己烷-丙酮(10:3) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 3% 香草醛硫酸溶液, 加热至斑点显色清晰。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, 且阴性对照无干扰。(见图 3)。

## 3 含量测定

### 3.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱 Phenomenex Gemini C<sub>18</sub> (4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu$ m), 流动相: 乙腈-水(36:64); 流速: 1.0 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>; 柱温: 40  $^{\circ}$ C; 日立 ALLTECH ELSD2000 型蒸发光散射检测器, 漂移管温度: 105  $^{\circ}$ C; 载气流速: 2.7 L  $\cdot$  min<sup>-1</sup>[3]; 理论板数以黄芪甲苷峰计算应不

低于 4 000, 分离度(R): > 1.5。

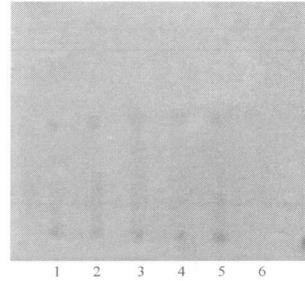


图 3 木香薄层色谱图

1. 木香对照药材; 2. 样品 (20050903); 3. 样品 (061202); 4. 样品 (061101); 5. 木香对照药材; 6. 阴性对照

### 3.2 对照品溶液的制备

精密称取黄芪甲苷对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.1 mg 的溶液。

### 3.3 供试品溶液的制备

取重量差异项下的本品, 剪碎, 取 9 g 精密称定, 加硅藻土 8 g 研匀, 置索氏提取器中, 加甲醇 40 mL, 冷浸过夜, 再加甲醇适量, 加热回流 6 min, 提取液回收甲醇并浓缩至干, 残渣加水 20 mL, 微热使溶解, 用水饱和的正丁醇振摇提取 4 次, 每次 40 mL, 合并正丁醇液, 用氨试液充分洗涤 2 次, 每次 40 mL, 弃去氨液, 正丁醇液蒸干, 残渣加水 10 mL 使溶解, 放冷, 通过 D101 型大孔吸附树脂柱(内径 1.5 cm, 长 12 cm), 以水 50 mL 洗脱, 弃去水液, 再用 40% 乙醇 30 mL 洗脱, 弃去洗脱液, 继用 70% 乙醇 100 mL 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 用甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

### 3.4 线性关系考察

分别精密吸取黄芪甲苷对照品的甲醇溶液(0.0972 g  $\cdot$  L<sup>-1</sup>) 5, 10, 15, 20, 25  $\mu$ L 注入液相色谱仪。测定, 以对照品进样量的自然对数为横坐标, 以峰面积的自然对数为纵坐标, 绘制标准曲线, 结果表明黄芪甲苷在 0.486~2.43  $\mu$ g 范围内线性关系良好, 其线性对数方程为:  $Y = 1.9526X + 13.6286$   $r = 0.9997$ 。

### 3.5 空白试验

按处方中药味的比例及工艺, 制成空白制剂, 再按供试品溶液的制备方法制备并测定, 结果阴性对照溶液在与黄芪甲苷对照品相同保留时间处未显色谱峰, 故认为无干扰(色谱图见 4~6)。

### 3.6 稳定性试验

取本品(批号: 20050903), 按“供试品溶液制

备”方法制备, 分别于配制后 0、2、4、8、12 和 24 h, 精密吸取同一供试品溶液 20  $\mu$ L, 注入液相色谱仪, 测

定峰面积, RSD 为 1.3%。结果表明, 黄芪甲苷在 24 h 内基本稳定。

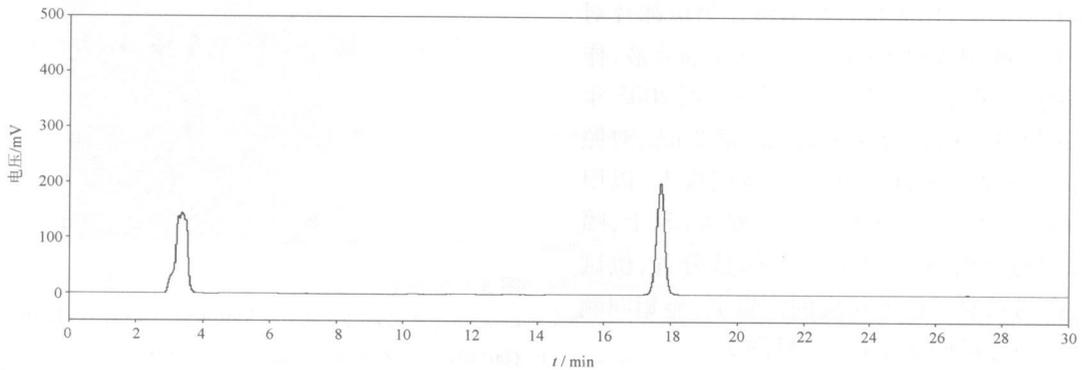


图4 黄芪甲苷对照品溶液色谱图

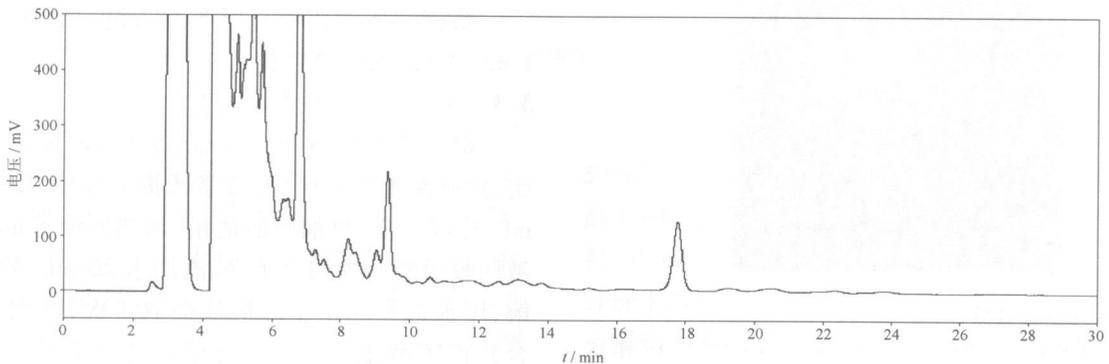


图5 样品(20050903)溶液色谱图

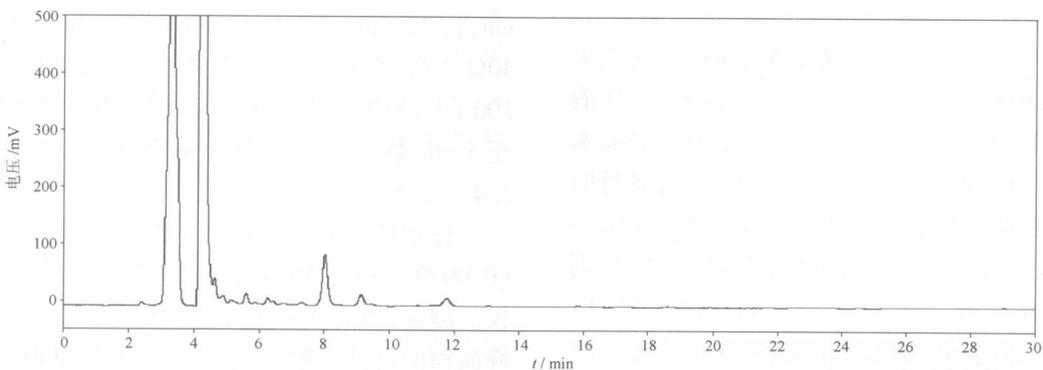


图6 阴性对照溶液色谱图

### 3.7 精密度试验

精密吸取供试液 20  $\mu$ L, 注入液相色谱仪, 重复进样 6 次, 测定峰面积, 结果 RSD 为 0.9%。

### 3.8 重复性试验

对同一批样品 6 份按“供试品溶液制备”方法制备, 进行测定, 黄芪甲苷的平均含量为每丸 0.435 2 mg, 结果 RSD 为 1.4%。

### 3.9 回收率试验

精密称取已知含量的同一批样品 (多邦药业 20050903 含量为每丸 0.435 2 mg) 4.5g 分别精密加入对照品溶液 ( $0.1016 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 各 2.1 mL, 按供试品溶液的制备方法制备及上述色谱条件测定, 计算回收率, 结果见表 1。

### 3.10 样品的测定

精密吸取对照品溶液 10、20  $\mu$ L, 供试品溶液 20  $\mu$ L, 注入液相色谱仪, 测定, 以外标对数两点法计算

表 1 回收率试验结果

No	取样量	样品中黄芪甲苷含量	加入对照品量	测得量	回收率	平均回收率	RSD
	/g	μg	μg	μg	%	%	%
1	4.4993	0.2195	0.2134	0.4363	101.59		
2	4.5030	0.2197	0.2134	0.4387	102.62		
3	4.5022	0.2197	0.2134	0.4367	101.69	101.70	0.50
4	4.5041	0.2198	0.2134	0.4369	101.73		
5	4.4987	0.2195	0.2134	0.4353	101.12		
6	4.4990	0.2195	0.2134	0.4362	101.56		

黄芪甲苷含量。结果见表 2。

表 2 样品测定结果

批号	含量 (mg/丸)
20050903	0.4352
061202	0.3399
061101	0.4669

## 4 讨论

4.1 采用 TLC 法对本品中黄连、冰片、木香进行定性鉴别, 专属性强, 斑点显色清晰, 且操作简便。

4.2 参考《中国药典》2005 年版一部黄芪含量测定方法以不同比例的乙腈-水 (32: 68)、乙腈-水 (34: 66)、乙腈-水 (36: 64) 作为流动相做了实验比较, 结果表明, 采用乙腈-水 (36: 64) 作为流动相对本品分

离效果好, 峰形对称, 保留时间适宜, 杂质峰达到基线分离, 阴性无干扰, 因此, 本文采用乙腈-水 (36: 64) 作为流动相。

4.3 含量测定中蒸发光散射检测器的载气流速和漂移管温度对本实验的影响比较大, 是影响本实验结果的重要参数, 不同的样品需要不同的条件, 本实验选择的条件可获得理想的信噪比和基线。

## 参考文献

- [1] 卫生部药品标准《中药成方制剂》[S]. 第四册 1991: 217.
- [2] 国家药典委员会. 《中国药典》2005 年版. 一部 [S]. 2005: 212.
- [3] 马艳蓉, 刘泓, 柴国林, 等. HPLC-ELSD 测定黄芪中黄芪甲苷含量及相关试验条件选择的探讨 [J]. 现代中药研究与实践, 2003, 17(6): 17-19.

## 高效液相色谱法测定黄体酮的有关物质

高娟, 唐素芳 (天津市药品检验所, 天津 300070)

**摘要** 目的: 建立高效液相法测定黄体酮有关物质。方法: 采用 Agela VenusilC<sub>8</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 甲醇-乙腈-水 (25: 35: 40) 为流动相, 流速 1.5 mL · min<sup>-1</sup>; 检测波长 241 nm; 柱温 40 °C。自身对照法。结果: 其最大杂质峰不超过对照溶液主峰面积的 1/2 (0.5%), 杂质峰面积之和不超过对照溶液主峰面积 (1.0%)。结论: 本方法能灵敏、准确、可靠的进行杂质检测, 对黄体酮有关物质的控制有一定的意义。

**关键词:** 高效液相色谱法; 黄体酮; 有关物质

中图分类号: 921.2 文献标识码: A 文章编号: 1009-3656(2010)-1-29-4

## Determination of Related Substances of Pregesterone by HPLC

Gao Juan, Tang Su-fang (Tianjin Institute for Drug Control, Tianjin 300070)

**Abstract Objective** To establish an HPLC method for determination of the related substances of Pregesterone. **Method** The HPLC

作者简介: 高娟, 女, 主管药师。学科及研究方向: 药物分析。联系电话: 022-23374074