

指纹图谱工作是一项艰巨而有意义的工作,需要 管理部门、生产单位与研究单位通力配合才能完成。

心安宁片中葛根、山楂、制何首乌 TLC 鉴别和大黄素含量测定研究

梁洪华 王军栋(烟台市药品检验所 山东烟台 264000)

摘要 目的:建立心安宁片中葛根、山楂、制何首乌的 TLC 定性鉴别法和大黄素的高效液相色谱含量测定法。方法:以葛根素为对照品,采用氯仿-甲醇(3:1)为展开剂,在 UV365nm 下检视;以齐墩果酸为对照品,采用氯仿-乙醚(1:0.8)为展开剂,30% 硫酸溶液为显色剂;以大黄素、大黄素甲醚为对照品,采用石油醚(30~60℃)-醋酸乙酯-冰醋酸(9:2:0.1)为展开剂,在 UV365nm 下检视,分别对心安宁片中葛根、山楂、制何首乌进行薄层色谱法鉴别。采用 Hypersil BDS C₁₈柱(4.6mm×250mm, 5μm),甲醇-水-磷酸(90:30:0.2)为流动相,检测波长为 288nm,流速为 1.0ml·min⁻¹,柱温为 35℃。结果:葛根素、齐墩果酸和大黄素、大黄素甲醚斑点清晰,阴性对照无干扰。HPLC 定量分析中,大黄素的线性范围为 1.132~11.320μg·ml⁻¹, $r=0.9999$,平均回收率为 99.5%, $(RSD=1.5\%,n=9)$ 。结论:该方法简便,快速,结果准确,重现性好。可用于该制剂的质量控制。

关键词 葛根素;齐墩果酸;大黄素;大黄素甲醚;心安宁片;HPLC;TLC;质量控制

TLC Identification for Radix Puerariae and Fructus Crataegi and Radix Polygoni Multiflori Preparata and the Quantitative Analysis of Emodin by HPLC in Xin'an Ning Tablets

Liang Honghua, Wang Jundong(Yantai Institute for Drug Control, Shandong Yantai 264000)

Abstract Objective: To develop the TLC identification for Radix Puerariae and Fructus Crataegi and Radix polygoni Multiflori Preparata and the quantitative analysis of Emodin by HPLC in Xin'an Ning Tablets. **Methods:** Radix Puerariae and Fructus Crataegi and Radix Polygoni Multiflori Preparata were identified by TLC, respectively, using puerarin and oleanolic acid and emodin and physcion as chemical reference substances, and chloroform-methanol(3:1) and chloroform-diethyl ether(1:0.8) and petroleum ether-ethyl acetate-glacial acetic acid(9:2:0.1) as mobile phases. Emodin contents were determined by HPLC using the BDS reversed-phase column of Hypersil C₁₈(4.6mm×250mm, 5μm), the mobile phase was a combination of methanol-water-phosphoric acid(90:30:0.2) at the flow rate of 1.0ml·min⁻¹, and the detection wavelength was 288nm, and column temperature at 35℃. **Results:** The TLC chromatograms of puerarin and oleanolic acid and emodin and physcion were of clearness, good separation, and no interference. The emodin contents in Xin'an Ning Tablets were determined by HPLC, in the linear range of 1.132 to 11.320μg·ml⁻¹, $r=0.9999$, and the recovery of 99.5% ($RSD=1.5\%$). **Conclusion:** The method is simple, quick, accurate, reproducible and can be used for the quality control of emodin of Xin'an Ning Tablets.

Key words: puerarin, oleanolic acid, emodin, physcion, Xin'an Ning Tablets, HPLC, TLC, Quality control

心安宁片是由葛根、山楂、制何首乌及珍珠粉 4 味中药材制成的中成药,收载于《卫生部药品标准》中药成方制剂第四册,具有养阴宁心、化症通络、降血脂之功效。用于治疗血脂高、心绞痛以及高血压引起的头痛、头晕、耳鸣、心悸等症。该标准只有性状鉴别,尚无定性鉴别及含量测定项目,故不能有效地控制药品的内在质量,本文建立了葛根、山楂、制何首乌的 TLC 定性鉴别方法及制剂中制何首乌的大黄素的高效液相色谱含量测定方法,为心安宁片的质量标准现代化研究提供科学依据。

1. 仪器与试药

LC-2010A 型高效液相色谱仪,CLASS-VP 色

谱数据处理工作站,日本岛津;BP211D 型电子分析天平,德国塞多利斯;SB3200 型超声提取器,上海;HY-4 调速多用振荡器,上海;薄层板自制。

对照品葛根素、齐墩果酸、大黄素、大黄素甲醚及对照药材葛根、山楂、何首乌均购自中国药品生物制品检定所;心安宁片为烟台中州制药厂生产;葛根、山楂、制何首乌阴性样品,委托烟台市中医院制剂室加工。甲醇为色谱纯,水为重蒸馏水,其余试剂均为分析纯。

2. 定性鉴别

2.1 葛根的薄层色谱鉴别

2.1.1 供试品溶液的制备 取本品去糖衣研

细之细粉 2.0g, 加甲醇 30ml, 加热回流 40 分钟, 滤过, 滤液浓缩之约 1ml, 即得。

2.1.2 对照品溶液的制备 取葛根素对照品适量, 加甲醇制成每 1ml 含 0.5mg 的溶液。

2.1.3 阴性对照溶液的制备 取不含葛根的阴性样品, 按供试品溶液的制备方法, 制成阴性对照溶液。

2.1.4 对照药材溶液的制备 取葛根对照药材 1.0g, 按供试品溶液的制备方法, 制成对照药材溶液。

2.1.5 薄层层析 分别吸取上述四种溶液各 5 μ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-甲醇(3:1)为展开剂, 展开, 展距 10cm, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365nm)下检视, 供试品色谱中, 在与对照品、对照药材色谱相应位置上显相同颜色的荧光斑点。阴性对照溶液在相应位置上无干扰斑点检出。见图 1。

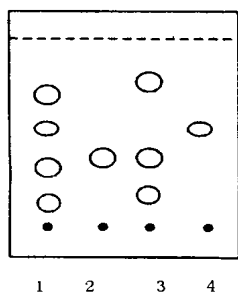


图 1 葛根的薄层色谱图

1. 供试品溶液 2. 葛根素对照品 3. 葛根对照药材
4. 阴性对照溶液

2.2 山楂的薄层色谱鉴别

2.2.1 供试品溶液的制备 取本品去糖衣研细至细粉 2.0g, 加氯仿 30ml, 振摇 40 分钟, 滤过, 滤液浓缩至约 1ml, 即得。

2.2.2 对照品溶液的制备 取齐墩果酸对照品适量, 加氯仿制成每 1ml 含 1mg 的溶液。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 取不含山楂的阴性样品, 按供试品溶液的制备方法, 制成阴性对照溶液。

2.2.4 对照药材溶液的制备 取山楂对照药材 1.0g, 按供试品溶液的制备方法, 制成对照药材溶液。

2.2.5 薄层层析 吸取上述四种溶液各 5 μ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-乙醚(1:0.8)为展开剂, 展开, 展距 11cm, 取出, 晾干, 喷 30% 硫酸溶液, 于 105℃ 加热至斑点显色清晰。置日

光下检视, 供试品色谱在与对照品、对照药材色谱相应位置上显相同颜色的斑点。阴性对照溶液无此斑点。见图 2。

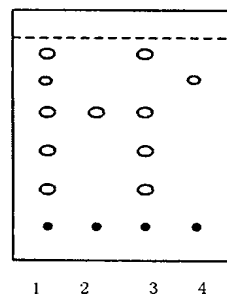


图 2 山楂的薄层色谱图

1. 供试品溶液 2. 齐墩果酸对照品 3. 山楂对照药材
4. 阴性对照溶液

2.3 制何首乌的薄层色谱鉴别

2.3.1 供试品溶液的制备 取按含量测定方法制备的乙醚提取液 10ml, 蒸干, 残渣加氯仿 1ml 使溶解, 即得。

2.3.2 对照品溶液的制备 取大黄素、大黄素甲醚适量分别加甲醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液。

2.3.3 阴性对照溶液的制备 取不含制何首乌的阴性样品, 按供试品溶液的制备方法, 制成阴性对照溶液。

2.3.4 对照药材溶液的制备 取何首乌对照药材 1.0g, 按供试品溶液的制备方法, 制成对照药材溶液。

2.3.5 薄层层析 吸取上述 5 种溶液各 4 μ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚(30~60℃)-醋酸乙酯-冰醋酸(9:2:0.1)为展开剂, 展开, 展距 12cm, 置紫外光灯(365nm)下检视, 供试品色谱中, 在与对照品、对照药材色谱相应位置上显相同颜色的荧光斑点, 阴性对照溶液无此斑点。见图 3。

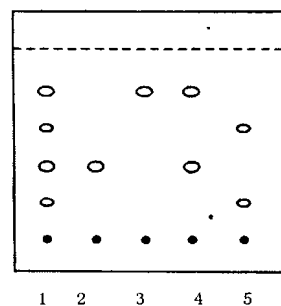


图 3 制何首乌的薄层色谱图

1. 供试品溶液 2. 大黄素对照品 3. 大黄素甲醚对照品
4. 何首乌对照药材 5. 阴性对照溶液

3. 含量测定

3.1 色谱条件 色谱柱: Hypersil BDS C₁₈ (4.6mm×250mm, 5μm), 流动相: 甲醇-水-磷酸(90:30:0.2), 流速: 1.0ml·min⁻¹, 柱温为 35℃。检

测波长: 288nm, 进样量: 20μl。在此条件下, 理论塔板数高于 5000。对照品、样品、阴性对照色谱图见图 4。

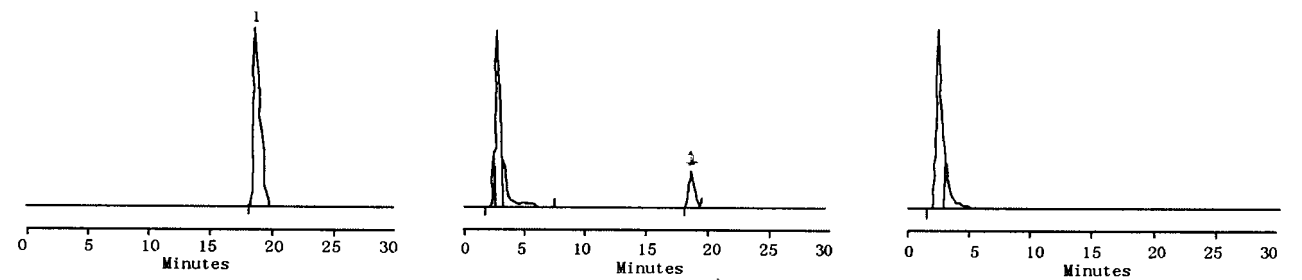


图 4 对照品(A) 供试品(B) 与阴性样品(C) 色谱图
1. 大黄素(emodion)

3.2 对照品溶液的制备 精密称取在五氧化二磷干燥器中放置 24 小时的大黄素对照品 5.66mg, 加甲醇定容至 100ml, 即得浓度 56.6μg·ml⁻¹ 的溶液, 作为对照品储备液。再精密量取此溶液 5ml, 加甲醇定容至 25ml, 即得 11.32μg·ml⁻¹ 的溶液。分别精密量取 1.0、3.0、5.0、6.0、8.0、10.0ml 置 10ml 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。

3.3 线性关系考察 分别精密吸取上述各浓度对照品溶液 20μl, 按上述色谱条件测定, 以峰面积为纵坐标, 对照品浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 其回归方程为: A = 83174.1X - 2638.1 r = 0.9999, 线性范围为 1.132~11.320μg·ml⁻¹。

3.4 供试品溶液的制备 取样品 20 片除糖衣, 研细, 取 2g, 精密称定, 置锥形瓶中, 加甲醇 30ml 超声处理 40 分钟, 放冷, 滤过, 滤液置 50ml 容量瓶中, 用少量甲醇分次洗涤容器和残渣, 洗滤液滤入同一容量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 精密量取 20ml 蒸干, 残渣加盐酸水溶液(1→10ml) 20ml, 置水浴中加热回流 40 分钟, 迅速冷却, 用乙醚 40ml 分 3 次(20、10、10)于分液漏斗中振摇提取, 合并乙醚提取液, 蒸干, 用甲醇溶解残渣并转移至 25ml 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 再用 0.45μm 微孔滤膜滤过, 即得供试品溶液。

3.5 干扰性试验 按处方比例制成不含制何首乌的药片, 依样品制备法制备成阴性对照溶液, 并按样品分析方法测定, 结果不干扰大黄素的含量测定。

3.6 精密度试验 取浓度为 11.32μg·ml⁻¹ 的对照品溶液重复进样 5 次, 测得峰面积 RSD 为

0.04%。
3.7 稳定性试验 取同一批号样品溶液分别于制备后, 1, 2, 4, 8, 12 小时依上述色谱条件测定, 峰面积的 RSD 为 1.8%。
3.8 重复性试验 精密称取已知含量的同一批号样品, 按供试品溶液的制备方法制备 5 份供试品溶液, 分别进行测定, 所得峰面积的 RSD 为 0.5%。

3.9 加样回收率试验 精密称取大黄素对照品 13.10mg, 甲醇溶解, 定容至 100ml, 摇匀, 制成大黄素对照品溶液(131μg·ml⁻¹)。取已知含量样品(大黄素含量为 0.265mg·g⁻¹), 批号为 980966) 除糖衣研匀之粉末适量, 精密称定 9 份(每份约 2.0g), 每 3 份为一组, 各组分别加入上述对照品溶液 1ml、2ml、4ml, 按“3.4”项下制备回收率试验供试液, 按样品测定方法操作, 计算低、中、高三个浓度的平均回收率为 99.24%、99.75%、99.49%, RSD 为 1.5% (n = 9)。

3.10 样品的测定 分别精密吸取大黄素对照品及供试品溶液各 10μl, 按“3.1”项下色谱条件对 5 批样品进行测定, 结果见表 1。

表 1 样品中大黄素的含量(n = 5)

批 号	含量(mg·g ⁻¹)	RSD(%)
980966	0.265	1.2
020405	0.110	2.0
020818	0.183	1.5
030403	0.264	1.2
030601	0.244	1.6

4. 讨论
4.1 采用 TEC 法对本品中葛根、山楂、制何首

乌进行鉴别,专属性强,鉴别效果清晰,且操作简便。

4.2 由于市售制何首乌品种混乱,而且即使是正品者的质量也参差不齐,所以为保证本制剂的质量,应增加对其原料药制何首乌中大黄素的含量测定,从而控制投料比例。

4.3 本文先后用无水乙醇、甲醇作溶媒,采用超声、加热回流提取法及超声或加热回流后,再用酸水解后提取,结果前两种法测得的大黄素含量低。后两种法测得的大黄素含量高,并且几无差别。

4.4 本文先后试验了不同比例的流动相:(甲

醇-水(75:25);甲醇-水-冰醋酸(95:25:8);甲醇-1%磷酸(85:1);甲醇-水-磷酸(90:30:0.2),结果以最后一种作为本品含量测定的流动相,分离度较好,保留时间适宜。

4.5 用 HPLC 法测定心安宁片中大黄素的含量,快速,简便,准确,使其质量标准更趋向科学化,规范化,可作为心安宁片中质量的定量分析方法。

参考文献

[1] 中华人民共和国药典 2000 年版一部

一清颗粒薄层鉴别的改进

陈巧华^① 范世明^② 包国荣^③ 马淑虾^④ (①福建医科大学附属第二医院 泉州 362000;②福建中医学院药理学系 福州 350003)

摘要 目的:对一清颗粒薄层鉴别方法的改进。方法:对提取方法、展开剂进行改进。结果:提取方法简单,简化了操作过程,薄层鉴别结果斑点清晰。结论:实验结果为一清颗粒薄层鉴别方法提供了一定的理论依据。
关键词 一清颗粒;薄层鉴别;黄芩;大黄;黄连

Improvement on the Identification of Thin Layer Chromatography in Yiqing Granules

Chen Qiaohua¹, Fan Shiming², Bao Guorong³ and Ma Shuxia⁴ (1. Second Hospital of Fujian Medical University, Quanzhou 362000; 2. Department of Pharmacy, Fujian College of TCM, Fuzhou 350003)

Abstract Objective: To improve an identification method for Thin layer chromatograph of Yiqing Granule. **Method:** TLC was selected as a method for the identification of Yiqing granule. **Result:** The effect of separation in the method is good, simple, rapid and accurate. **Conclusion:** The studies of the experiment provide the scientific base for the improvement of quality control of Yiqing Granule.
Key words Yiqing Granule, Thin layer chromatograph, baicalensis

一清颗粒由黄连、大黄、黄芩三味药组成,具有清热泻火解毒,化瘀凉血止血的作用,收载于《中国药典》2000 年版一部。在对一清颗粒的薄层鉴别中发现 2000 年版药典所采用的提取方法较繁琐费时,薄层鉴别的结果不够理想,故对提取方法、薄层板、展开系统进行了改进,结果缩短了提取时间,简化了操作过程,斑点清晰明显,取得了较为满意的结果。

1. 仪器试药

1.1 仪器 KQ-500DE 型医用数控超声清洗仪(昆山市超声仪器有限公司),WD-9403C 型紫外分析仪(北京市六一仪器厂,北京跃德生物医学仪器有限公司),BS210S 型电子天枰(北京赛多利斯天平有限公司)。

1.2 试药 大黄素对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110756-2000110),黄芩苷对照品(中

国药品生物制品检定所,批号 110715-200212),盐酸小檗碱对照品(中国药品生物制品检定所,批号 0713-9906),一清颗粒(市售),其他试剂均为分析纯。

2. 鉴别

2.1 黄芩的薄层鉴别

取本品 8g,加甲醇 50ml,超声 10min,滤过,滤液置水浴上浓缩至约 2ml,作为供试品溶液。取缺黄芩的药材同法制备阴性对照溶液。另取黄芩苷对照品,加甲醇制成每 1ml 含 0.5mg 的溶液,作为对照品溶液,照薄层色谱法(中国药典 2000 年版一部附录 VI)试验,吸取上述溶液各 10μl,分别点于同一以 0.5% 羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 H 薄层板上,以醋酸乙酯-丁酮-甲酸-水(10:6:1:1)(药典法)为展开剂,上行展开,取出,晾干,喷以 2% 三