

2005, 27 (9): 1027-1029.

药, 2007, 29 (2): 298-299.

[3] 付小六. HPLC测定妇炎康片中盐酸小檗碱的含量 [J]. 中成

[4] 中国药典 2005年版一部 [S]. 2005: 114-116.

那保胶囊质量标准研究

马明英^{1,3}, 张晓峰^{1*}, 沈建伟¹, 付超美²

(1. 中国科学院西北高原生物所, 青海 西宁 810008; 2. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 610075; 3. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

关键词: 那保胶囊; 乌头碱; 黄芪甲苷; HPLC-ELSD; TLC

摘要: 目的: 建立那保胶囊 (黄芪、当归、延胡索、白花蛇舌草、铁棒锤等) 的质量标准。方法: 采用 TLC 对方中当归、延胡索及白花蛇舌草进行鉴别, 对毒性药材铁棒锤进行限量检查, 采用高效液相色谱-蒸发光散射检测器 (HPLC-ELSD) 法测定黄芪甲苷的含量。结果: TLC 鉴别分离度好, 专属性强; 铁棒锤中乌头碱含量不超过规定; 黄芪甲苷在 1~10 μg 的范围内线性关系良好 ($r=0.9990$), 平均回收率为 99.05% ($RSD=2.48\%$, $n=6$)。结论: 所建立的质量标准方法可靠、准确、专属性强, 可有效控制那保胶囊的质量。

中图分类号: R927.2

文献标识码: A

文章编号: 1001-1528(2007)12-1783-04

Quality standard for Nabao Capsule

MA Ming-ying^{1,3}, ZHANG Xiao-feng^{1*}, SHEN Jian-wei¹, FU Chao-mei²

(1. Northwest Plateau Institute of Biology, The Chinese Academy of Sciences, Xining 80001, Qinghai China; 2. Chengdu University of TCM, Chengdu 610075, Sichuan China; 3. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

KEY WORDS: Nabao Capsule; aconitine; astragaloside; HPLC-ELSD; TLC

ABSTRACT: **A M:** To establish the quality standard for Nabao Capsule (*Radix Astragali*, *Radix Angelicae sinensis*, *Rhizoma Corydalis*, *Herba Hedyotis*, etc.). **METHODS:** *Radix Angelicae sinensis*, *Rhizoma Corydalis*, *Herba Hedyotis* and *Pendulous Monkshood Root* in Nabao Capsule were identified by TLC. A stragaloside was determined by HPLC. **RESULTS:** The characteristic identification by TLC was distinct and highly specific, the quantitative evaluation of thymol had the linear range of 1-10 μg. The average recovery was 99.05% and RSD was 2.48%. **CONCLUSION:** The method is reliable, accurate and specific, and can be used for the quality control of Nabao Capsule.

那保胶囊由黄芪、当归、延胡索、白花蛇舌草、铁棒锤等药组成, 经醇提、浓缩、减压干燥、湿法制粒等一系列工艺处理后制成。具有清热解毒、镇惊、解痉止痛。用于外伤疼痛、术后疼痛、各种内脏痉挛性疼痛以及中晚期癌痛。为有效控制产品质量, 本实验对当归、延胡索、白花蛇舌草进行了薄层色谱鉴别; 对铁棒锤药材进行了乌头碱限量检查; 对黄芪甲苷进行含量测定, 建立了可靠、准确、专属性强的质量

控制方法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Series 1500型高效液相色谱仪, MOD-EL200型蒸发光散射检测器 (美国 Softa corporation), N2000 色谱工作站; BP211D 电子分析天平 (德国 Sartorius); 薄层自动铺板器 (重庆南岸新力实验电器厂)。

1.2 试剂 当归对照药材、延胡索乙素对照品、延

收稿日期: 2006-12-11

作者简介: 马明英 (1979~), 女, 硕士研究生, 研究方向: 中药新制剂、新剂型, E-mail: mingyingma@126.com

* 通讯作者: 张晓峰, 研究员, 博士生导师, 电话: 13909715266.

胡索对照药材、齐墩果酸对照品、白花蛇舌草对照药材、乌头碱对照品、黄芪甲苷对照品均由中国药品生物制品检定所提供;硅胶 G(青岛海洋化工有限公司);二次重蒸水;乙腈(色谱纯, Fisher公司),其它所用试剂均为分析纯。那保胶囊样品由成都中医药大学炮制制剂教研室提供。

2 实验方法与结果

2.1 定性鉴别^[1]

2.1.1 当归的鉴别 取本品 1 g,研细加乙醚 20 mL,超声处理 10 min,滤过,滤液蒸干,残渣加乙醇 1 mL使溶解,作为供试品溶液。另取缺当归的阴性样品同法制成阴性对照溶液。再取当归对照药材 0.5 g,同法制成对照药材溶液。吸取上述 3种溶液各 10 μ L,分别点于同一硅胶 G薄层板上,以正己烷 醋酸乙酯(4:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,阴性无干扰见图 1。

2.1.2 延胡索的鉴别 取本品 2 g,研细加甲醇 50 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 10 mL使溶解,加浓氨试液调至碱性,用乙醚振摇提取 3次,每次 10 mL,合并乙醚液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL使溶解,作为供试品溶液。取缺延胡索的阴性样品同法制成阴性对照溶液。另取延胡索对照药材 1 g,同法制成对照药材溶液。再取延胡索乙素对照品,加甲醇制成每 1 mL含 0.5 mg的溶液。吸取上述 4种溶液各 2 μ L,分别点于同一用 1% 氢氧化钠溶液制备的硅胶 G薄层板上,以甲苯 丙酮(9:2)为展开剂,展开,取出,晾干,置碘缸中 3 min后取出,挥尽板上吸附的碘后,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品和对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,阴性无干扰见图 2。

2.1.3 白花蛇舌草的薄层鉴别 取本品 2 g,研细加苯 20 mL,超声提取 15 min,滤过,滤液挥干,残渣加甲醇 1 mL使溶解,作为供试品溶液。取缺白花蛇舌草的阴性样品同法制成阴性对照溶液。另取白花蛇舌草对照药材 0.5 g,同法制成对照药材溶液。再取齐墩果酸对照品,加甲醇制成每 1 mL含 1 mg的溶液,吸取上述 4种溶液各 10 μ L,分别点于用同一硅胶 G薄层板上,以甲苯 醋酸乙酯 甲酸(11:1:0.4)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰^[2]。供试品色谱中,在与对照品和对照药材色谱相应的位置上,

显相同颜色的斑点,阴性无干扰见图 3。

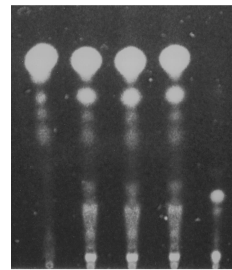


图 1 当归 TLC鉴别
1. 当归对照药材 2~4. 样品
5. 缺当归阴性对照

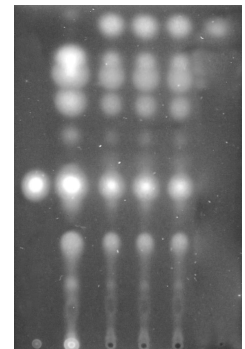


图 2 延胡索 TLC鉴别
1. 延胡索乙素对照品 2. 延胡索对照药材 3~5. 样品
6. 缺延胡索阴性对照

2.2 乌头碱限量检查

取本品 20粒,置具塞三角烧瓶中,加 80% 乙醇 30 mL,浸泡过夜,滤过,滤液低温蒸干,残渣加 20 mL 2% 盐酸使溶解,酸水液滴加氨试液调 pH至 9~11,用氯仿提取 4次(20, 20, 10, 10 mL),氯仿层自然挥干,残渣加无水乙醇使溶解,定量转移至 2 mL量瓶中并稀释至刻度,作为供试品溶液^[3]。另取缺铁棒锤的阴性样品,同法制成阴性对照溶液。另取乌头碱对照品,加无水乙醇制成每 1 mL含 2 mg的溶液,作为对照品溶液。吸取上述 3种溶液 4 μ L,分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G薄层板上,以醋酸乙酯 正己烷(1:1)为展开剂,氨蒸汽饱和,展开,取出,晾干,喷以改良碘化铋钾试液至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上出现的斑点,应小于对照品斑点或不出现斑点,阴性对照色谱在相应的位置上未见有相同颜色的斑点,如图 4。

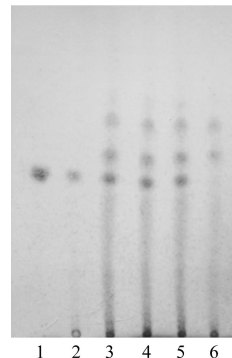


图 3 白花蛇舌草 TLC鉴别
1. 齐墩果酸对照品 2. 白花蛇舌草对照药材 3~5. 样品
6. 缺白花蛇舌草阴性对照

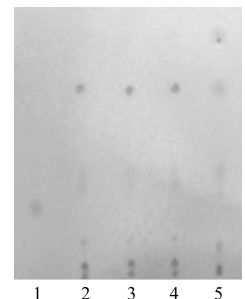


图 4 乌头碱限量检查
1. 乌头碱对照品 2~4. 样品
5. 缺铁棒锤阴性对照

2.3 黄芪甲苷的含量测定^[4]

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

2.3.2 供试品及阴性样品溶液 精密称取本品及阴性样品粉末各 7.5 g,分别置索氏提取器中,加甲醇 40 mL,冷浸过夜,再加甲醇适量,加热回流 4 h,提取液回收溶剂并浓缩至干,残渣加水 10 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 5 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,再用 70% 乙醇 80 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,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,即得。

2.3.3 色谱条件 色谱柱:Kromasil C₁₈柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(36:64 V/V);流速:1.0 mL/min;柱温:35℃;检测器参数:气化室温度:70℃,蒸发室温度:40℃,氮气压力:319 kPa。在此条件下,分别吸取黄芪甲苷对照品,供试品溶液,阴性样品溶液 10 μL,注入色谱仪,结果色谱图保留时间适中,分离度较高,且阴性无干扰,见图 5。

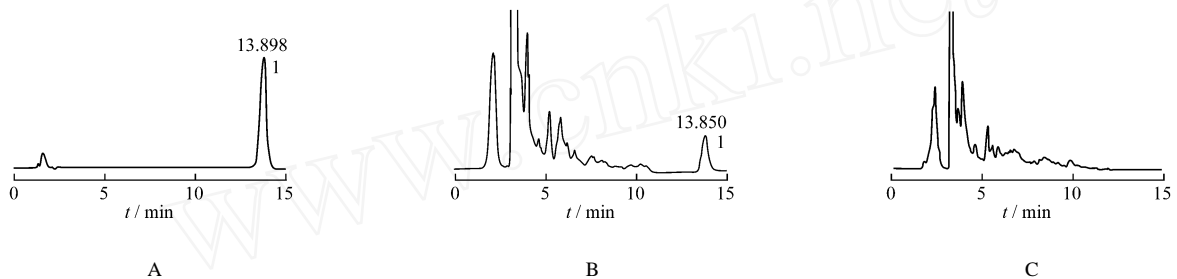


图 5 那保胶囊中黄芪甲苷含量测定的色谱图

A. 对照品 B. 样品 C. 阴性样品 1. 黄芪甲苷

A. reference substance; B. sample; C. negative control 1. astragaloside

2.3.4 线性关系考察 精密吸取上述对照品溶液 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 1 mL 置 1 mL 量瓶内,用甲醇稀释至刻度,各进样 10 μL,按上述色谱条件测定。以进样量的对数值(X)为横坐标,峰面积的对数值(Y)为纵坐标,经线性回归,得回归方程: $Y = 1.3526X + 13.544$, $r = 0.9990$,黄芪甲苷在 1~10 μg 范围内线性关系良好。

2.3.5 精密度试验 精密吸取黄芪甲苷对照品溶液(0.50 mg/mL) 10 μL,连续进样 6 次,按上述色谱条件测定峰面积, RSD 为 1.82% ($n = 6$)。结果表明:仪器精密度良好。

2.3.6 稳定性试验 取同一供试品溶液,分别于 0, 6, 12, 24, 48 h 进样 10 μL,按上述色谱条件测定

峰面积, RSD 为 1.89% ($n = 5$)。结果表明:供试品溶液在 48 h 内稳定。

2.3.7 重复性试验 取样品(批号 060501)内容物 6 份,分别照“2.3.2 项下方法制备供试品溶液,并按上述色谱条件进行测定, RSD 为 1.48% ($n = 6$)。结果表明,该方法重复性良好。

2.3.8 加样回收率试验 取已知含量(0.1878 mg/g)的样品(批号 060501)内容物 6 份,各约 3.75 g,精密称定,分别精密加入浓度为 0.1409 mg/mL 的黄芪甲苷对照品溶液 5 mL,按上述供试品溶液的制备方法及其色谱条件测定,计算回收率,结果见表 1。

表 1

回收率试验结果 ($n = 6$)

Tab 1

Results of recovery ($n = 6$)

取样量 /g	样品中黄芪甲苷量 /mg	加入对照品量 /mg	测得总量 /mg	回收率 /	平均回收率 /	RSD /
3.7505	0.7043		1.3843	96.52		
3.7498	0.7042		1.4039	99.32		
3.7517	0.7046	0.7045	1.3806	95.95	99.05	2.48
3.7513	0.7045		1.4243	102.17		
3.7350	0.7033		1.4158	101.14		
3.7509	0.7044		1.4032	99.19		

2.3.9 样品测定 取那保胶囊样品 3 批,按“2.3.2 项下方法制备供试品溶液,并按上述色谱条件,以外标两点法测定样品中黄芪甲苷峰面积,计算黄芪甲苷含量,结果见表 2。

表 2 样品中黄芪甲苷含量测定结果 (n=3)

Tab 2 Determination results of Astragaloside A (n=3)

批号	黄芪甲苷含量 /mg粒	RSD /
060501	0.0677	1.83
060502	0.0633	1.87
060503	0.0689	1.33

3 讨论

3.1 本品为藏药复方制剂,所含成分复杂、相互干扰大,试验曾参照文献^[5,6]的高效液相色谱条件测定毒性药材铁棒锤中的乌头碱,均未获得良好的分离,达不到含量测定的要求。参照相关文献并经过反复实验,建立了薄层色谱法对铁棒锤药材的限量检查方法,结果表明,在选定的色谱条件下,其它成分对乌头碱不造成干扰,测定结果符合要求,结果准确,重现性好。该法的建立对保证那保胶囊的安全有效有一定的意义,也为其它藏药制剂中有毒药材

的安全评价提供依据。

3.2 本试验对那保胶囊进行的薄层色谱鉴别重现性好,斑点清晰,无干扰,易识别;使用 HPLC-ELSD 法测定那保胶囊中黄芪甲苷的含量,方法简便,色谱峰分离效果良好,阴性对照无干扰,结果准确可靠,可作为本品质量控制方法。

参考文献:

- [1] 中国药典 2005年版一部 [S]. 2005.
- [2] 谭永红,吴苏澄,姜云平,等. 胃炎停胶囊中白花蛇舌草,延胡索高良姜的薄层色谱鉴别 [J]. 华西药学杂志, 1998, 13 (4): 265-266.
- [3] 杨智峰,刘建峰,张红,等. 铁棒锤药材质量标准研究 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30 (22): 1771-1773.
- [4] 中国药典 2005年版一部 [S]. 2005: 213.
- [5] 陶淑娟,邵太丽,毕开顺. RP-HPLC法测定蒙药那如-3丸中乌头类生物碱含量 [J]. 沈阳药科大学学报, 2005, 22 (3): 197-199.
- [6] 郭林祥,温爱平,党晓菊,等. 高效液相色谱法测定草乌药材中有效成分的含量 [J]. 中国民族医药杂志, 2003, 9 (2): 36-37.

HPLC-ELSD测定心宁片中三七皂苷 R₁、人参皂苷 R_g、人参皂苷 R_{b1}的含量

冯向东¹, 黄海欣¹, 高光伟², 张金霞², 苏霞¹

(1. 河南省南阳市药品检验所, 河南 南阳 473000; 2 南阳市中心医院, 河南 南阳 473000)

关键词: 心宁片; HPLC-ELSD; 三七皂苷 R₁; 人参皂苷 R_g; 人参皂苷 R_{b1}

摘要: 目的: 建立心宁片 (丹参、三七、红花、川芎等) 中三七皂苷 R₁、人参皂苷 R_g、R_{b1} 的含量测定方法。方法: 采用 HPLC 梯度洗脱法, 使用 C₁₈ 柱, 流动相为乙腈-水梯度洗脱, (0~5 min, 20~25 乙腈; 5~20 min, 25~45 乙腈); ELSD 漂移管温度 70; 氮气流速 2.0 L/min; 柱温 35。结果: 3 种皂苷类成分得到很好分离, 线性关系良好, 平均加样回收率: 三七皂苷 R₁, 人参皂苷 R_g, 人参皂苷 R_{b1} 分别为 102.32%, 100.73% 和 101.40%。RSD 分别为 0.97%, 1.16% 和 1.21%。结论: 本法结果准确, 便于操作, 可作为心宁片的质量控制方法之一。

中图分类号: R927.2

文献标识码: A

文章编号: 1001-1528(2007)12-1786-03

Determination of notoginsenoside R₁, ginsenoside R_g and R_{b1} in Xinning Tablet by HPLC-ELSD

FENG Xiang-dong¹, HUANG Hai-xin¹, GAO Guang-wei², ZHANG Jin-xia², SU Xia¹

(1. Nanyang Institute for Drug Control, Nanyang 473000, China; 2. The Central Hospital of Nanyang, Nanyang 473000, China)

收稿日期: 2007-02-13

作者简介: 冯向东 (1971~), 男, 主管药师, 研究方向: 中成药质量标准研制, 电话: 0377-63135459。