

蒲葶颗粒的定性定量研究

李勇军, 何迅, 郑林, 王爱民, 王永林, 兰燕宇*
(贵阳医学院药学院, 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 建立蒲葶颗粒的定性定量方法。方法: 采用薄层色谱法对蒲葶颗粒中的何首乌、蒲公英、薏苡仁和灵芝进行定性鉴别; 采用 HPLC 法对其何首乌中的大黄素进行含量测定。结果: 在薄层色谱中何首乌、蒲公英、薏苡仁和灵芝能得到很好的鉴别; 大黄素在 0.073 ~1.171 μg 范围内线性关系良好, 平均回收率为 99.0%, RSD 为 2.2% ($n=9$)。结论: 该方法准确、简便、重复性好, 可用于蒲葶颗粒的质量控制。

[关键词] 蒲葶颗粒; 薄层色谱法; 高效液相色谱法; 大黄素

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)04-0024-04

Study on qualitative and quantitative methods of puyi granules

LI Yong-jun, HE Xun, ZHENG Lin, WANG Ai-min, WANG Yong-lin, LAN Yan-yu*
(School of Pharmacy, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, China)

[Abstract] Objective: To establish the qualitative and quantitative methods for Puyi Granules. **Method:** Radix Polygoni Eultiflori, Herba Taraxaci, Semen Coicis and Ganoderma were identified by TLC, and the content of emodin in the preparation was determined by HPLC. **Result:** Radix Polygoni Eultiflori, Herba Taraxaci, Semen Coicis and Ganoderma could be identified well by TLC. The regression curve of emodin showed a good linear relationship in the range of 0.073 ~1.171 μg . The average recovery was 99.0%, RSD was 2.2%. **Conclusion:** The method is accurate, simple and has good repeatability. It can be used for quality control of Puyi Granules.

[Key words] Puyi Granules; TLC; HPLC; emodin

蒲葶颗粒是由何首乌、蒲公英、薏苡仁、灵芝等 5 味药组成, 采用现代制剂提取技术富集有效成分精制而成的中药复方制剂, 具有清热解毒、活血化瘀、补益气血的功效, 临床用于消化道肿瘤的放疗、化疗的辅助治疗。为有效控制产品质量, 笔者参照有关文献^[1-2], 制定了何首乌、蒲公英、薏苡仁和灵芝的薄层色谱鉴别方法, 并采用高效液相色谱法测定何首乌中有效成分大黄素的含量。结果表明, 本方法简便、准确、可靠、重复性好, 可用于本品的质量控制。

1 仪器与试药

高效液相色谱仪系统, 包含 LC-10ATvp 泵、

SPD-10Avp 紫外检测器(日本岛津公司); AE240 电子天平(梅特勒-托利多上海仪器有限公司); TCQ250 型超声波清洗器(北京医疗设备厂); ZF-401 型可见紫外检测仪(上海顾村电光仪器厂)。

大黄素对照品(批号 0756-200009)、何首乌对照药材(批号 0934-9902)、蒲公英对照药材(批号 1195-20001)、薏苡仁对照药材(批号 121254-200301)、灵芝对照药材(批号 0968-9802)均购自中国药品生物制品检定所; 蒲葶颗粒(批号 080306、080310、080312)由贵阳医学院药物研究所提供; 甲醇为色谱纯, 水为重蒸水, 其余试剂均为分析纯。

2 薄层色谱鉴别

2.1 何首乌的鉴别 取蒲葶颗粒 3 g, 研细, 加 70% 乙醇 30 mL, 加热回流 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 20 mL, 水浴加热, 离心, 上清液用乙醚提取 2 次, 每次 20 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; 分别取缺何首乌的阴性样品 3 g 及何首乌对照药材 1 g, 同法制成阴性

[收稿日期] 2009-09-03

[基金项目] 国家科技支撑计划(2006BAI06A01-03); 贵州省科技计划项目(黔科合计工字[2009]4001)

[通讯作者] * 兰燕宇, Tel: (0851) 6908899; E-mail: lanyanyu@gmail.com

对照溶液和对照药材溶液。吸取上述溶液各 10 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚(60 ~ 90)-乙酸乙酯-甲酸(7 3 0.5)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品溶液色谱中, 在与对照溶液色谱相应的位置上显相同颜色的荧光斑点, 阴性对照溶液无干扰(图 1)。

2.2 蒲公英的鉴别 取蒲葶颗粒 2 g, 研细, 加 70% 乙醇 20 mL, 加热回流 30 min, 滤过, 滤液蒸至近干, 残渣加水 20 mL, 微热使溶解, 用稀盐酸调节 pH 至 2, 以乙醚提取 2 次, 每次 15 mL, 合并乙醚液, 用 2% 碳酸钠溶液提取 2 次, 每次 10 mL, 合并碳酸钠溶液, 用稀盐酸调节 pH 至 2, 再用乙醚提取 2 次, 每次 15 mL, 合并乙醚液, 用适量无水硫酸钠干燥后, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液; 另取蒲公英的阴性样品 2 g, 同法制成阴性对照溶液; 再取蒲公英对照药材 1 g, 加甲醇 20 mL, 加热回流 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 10 mL 使溶解, 滤过, 滤液用乙酸乙酯提取 2 次, 每次 10 mL, 合并醋酸乙酯液, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为对照药材溶液。吸取上述溶液各 2 μL , 分别点于同一聚酰胺薄膜上, 使成条带状, 以甲醇-甲酸(4 1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品溶液色谱中, 在与对照溶液色谱相应的位置上显相同颜色的荧光斑点, 阴性对照溶液无干扰(图 2)。

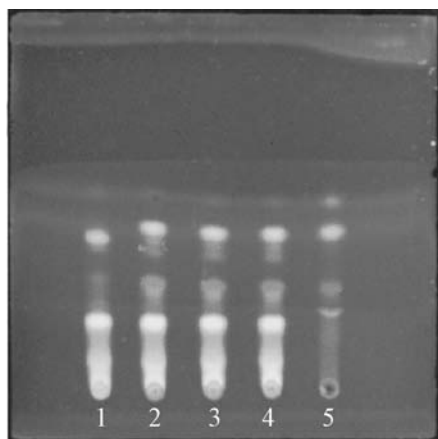


图 1 何首乌的薄层色谱

1. 阴性对照品; 2 ~4. 供试品; 5. 何首乌对照药材

2.3 薏苡仁的鉴别 取蒲葶颗粒 2.5 g, 研细, 加石油醚 60 ~90 10 mL, 超声处理 15 min, 摇匀, 静止, 上清液作为供试品溶液。分别取缺薏苡仁的阴性样品 2.5 g 及薏苡仁对照药材 0.5 g, 同法制成阴性对照溶液和对照药材溶液。吸取上述溶液各 5 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚(60 ~ 90)-乙醚-冰醋酸(5 2 0.1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干。喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 在 105 加热至

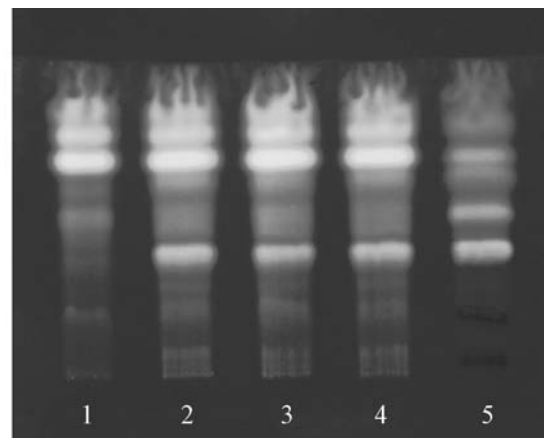


图 2 蒲公英的薄层色谱

1. 阴性对照品; 2 ~4. 供试品; 5. 蒲公英对照药材

斑点清晰, 置日光下检视。供试品溶液色谱中, 在与对照溶液色谱相应的位置上显相同颜色的斑点, 阴性对照溶液无干扰(图 3)。

2.4 灵芝的鉴别 取 2.1 项下何首乌鉴别供试品溶液作为灵芝鉴别供试品溶液; 另分别取缺灵芝的阴性样品 3 g 及灵芝对照药材 2 g, 同法制成阴性对照溶液和对照药材溶液。吸取上述溶液各 10 μL , 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 使成条带状, 以石油醚(60 ~90)-乙酸乙酯-甲酸(6 4 0.5)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。供试品溶液色谱中, 在与对照溶液色谱相应的位置上显相同颜色的荧光斑点, 阴性对照溶液无干扰(图 4)。

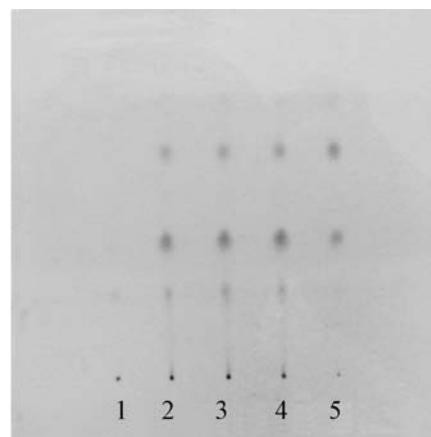


图 3 薏苡仁的薄层色谱

1. 阴性对照品; 2 ~4. 供试品; 5. 薏苡仁对照药材

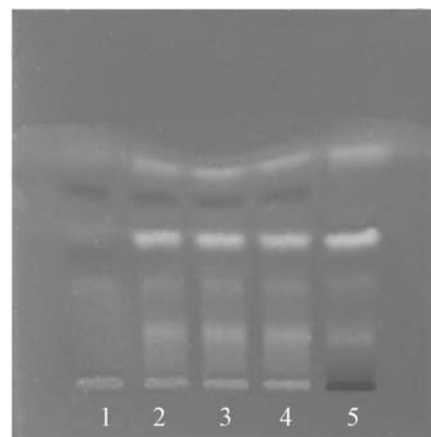


图 4 灵芝的薄层色谱

1. 阴性对照品; 2 ~4. 供试品; 5. 灵芝对照药材

3 含量测定

3.1 色谱条件 色谱柱: Lichrospher C₁₈ (4.6 mm × 200 mm, 5 μm); 流动相 甲醇-水-磷酸 (78:22:0.1); 流速 1 mL·min⁻¹; 柱温 40 °C; 检测波长 291 nm; 进样量为 10 μL; 理论塔板数以大黄素峰计算应不低于 5 000。

3.2 对照品溶液的制备 精密称取大黄素对照品 18.30 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 得对照品储备液; 精密量取该对照品储备液 10 mL 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 得浓度为 0.1464 mg·mL⁻¹ 的大黄素对照品溶液。

3.3 供试品溶液的制备 取蒲葶颗粒, 研细, 混匀, 取约 1 g, 精密称定, 置烧瓶中, 精密加入 70% 乙醇 25 mL, 称定质量, 加热回流 1 h, 放冷, 再称定质量, 用 70% 乙醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 10 mL, 置烧瓶中, 水浴蒸干, 加 2.5 mol·L⁻¹ 硫酸 15 mL, 超声处理 10 min (250 W, 频率 29~34 kHz), 再加三氯甲烷 15 mL, 加热回流 1 h, 冷却, 移置分液漏斗中, 用少量氯仿洗涤容器, 并入分液漏斗中, 分取三氯甲烷层, 酸液用三氯甲烷提取 3 次, 每次 10 mL, 合并三氯甲烷液, 置水浴上蒸干, 残渣用甲醇溶解, 定量转移至 10 mL 量瓶中, 稀释至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

3.4 空白试验 按本品相同工艺制备缺何首乌的阴性样品, 并按 3.3 项下方法制成空白对照品溶液。分别吸取对照品溶液、供试品溶液、空白对照品溶液, 按 3.1 项下色谱条件进样测定, 供试品溶液中大黄素峰与邻峰分离良好, 空白对照品对大黄素的测定无干扰 (图 5)。

3.5 线性关系考察 精密吸取对照品溶液 (0.1464 mg·mL⁻¹) 0.5, 1, 2, 4, 8 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度。按 3.1 项下色谱条件进样, 记录色谱。以峰面积 (Y) 对相应的浓度 (X) 进行线性回归, 得回归方程为: $Y = 3.81 \times 10^7 X + 1.51 \times 10^2$ ($r = 0.9999$)。结果, 大黄素进样量在 0.073~1.171 μg 与峰面积线性关系良好。

3.6 精密度试验 取同一供试品溶液连续进样 6 次, 每次 10 μL, 测定大黄素峰面积。结果的 RSD 0.65%, 表明精密度良好。

3.7 重复性试验 取同一批号 (批号: 080306) 样品 6 份, 按供试品溶液制备方法制备供试液, 分别进样测定, 大黄素平均质量分数为 0.3364 mg·g⁻¹, RSD

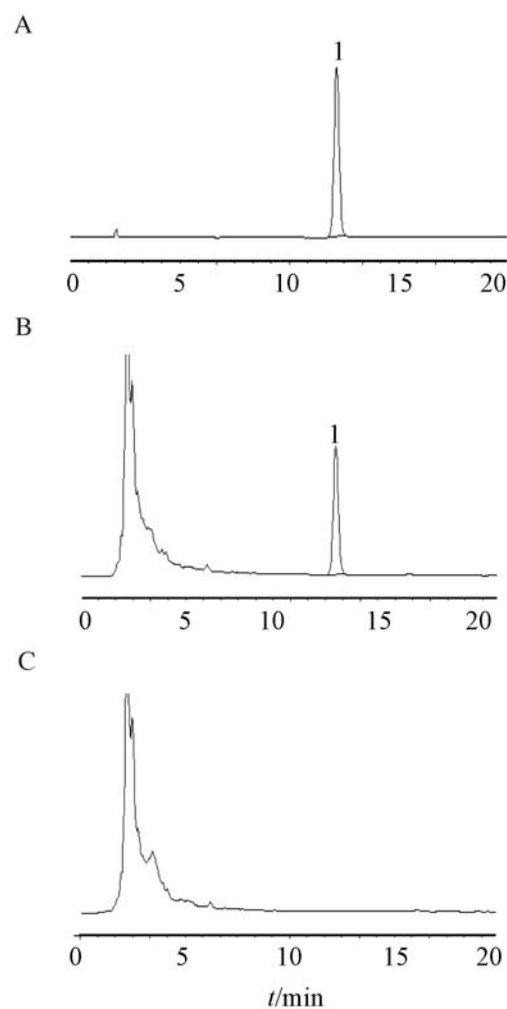


图 5 高效液相色谱

A. 大黄素对照品; B. 供试品; C. 阴性样品; 1. 大黄素

= 1.8%。结果表明重复性好。

3.8 稳定性试验 取同一供试品溶液, 分别于 0, 1, 2, 4, 8 h 时进样 10 μL 测定, 记录大黄素峰面积。RSD = 0.85%, 表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

3.9 加样回收率试验 精密称取已知含量的样品 9 份, 精密加入大黄素对照品适量, 制成供试液, 分别进样测定并计算回收率, 见表 1。

表 1 加样回收率试验

样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收 率 / %	RSD /%
0.172 1	0.085 3	0.254 8	96.95		
0.167 5	0.085 3	0.255 1	102.70		
0.170 8	0.085 3	0.254 2	97.77		
0.168 9	0.170 6	0.340 8	100.80		
0.166 1	0.170 6	0.332 4	97.48	99.0	2.2
0.171 6	0.170 6	0.341 4	99.53		
0.165 5	0.255 9	0.424 2	101.10		
0.175 4	0.255 9	0.422 5	96.56		
0.174 1	0.255 9	0.424 7	97.93		

3.10 样品测定 取 3 批供试品, 分别按 3.3 项下方法制备供试品溶液, 按上述色谱条件测定, 大黄素的质量分数分别为 0.336, 0.331, 0.320 mg·g⁻¹。

4 讨论

通常大黄素的检测波长选用 254 nm^[3-4], 由于