

复方景天胶囊定性定量方法的研究

闫雪生^{1*}, 李 岩¹, 马中艳²

(1. 山东省中医药研究院, 山东 济南 250014; 2. 山东大学, 山东 济南 250010)

[摘要] 目的: 研究复方景天胶囊中主要药物的鉴别和含量测定方法。方法: 采用薄层层析鉴别主要药物, 用高效液相色谱法测定制剂中黄芪甲苷的含量。结果: 确立了制剂中红景天和人参的鉴别方法, 黄芪甲苷的线性范围为 1.81~ 18.1 μg , 回归方程: $Y = 1.694 2X + 4.802 6$, $r = 0.999 7$ 。平均回收率为 98.09%, RSD 为 1.91%。结论: 该实验建立的鉴别和含量测定方法具有专属性强, 重复性好, 无明显干扰等特点, 适用于本品质量的控制。

[关键词] 复方景天胶囊; 薄层鉴别; 黄芪甲苷; 含量测定

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)07-0005-03

Quality Standard for Fufang Jingtian Capsul

YAN Xue-sheng^{1*}, LI Yan, MA Zhong-yan²

(1. Shandong Academy of Traditional, Chinese Medicine and Materia Medica, Jinan 250014, China;

2. Shandong University, Jinan 250010, China)

[Abstract] **Objective:** To study the method of identification and content determination of the important component in Fufang Jingtian Capsule. **Methods:** The major compounds in this drug were identified by the thin layer chromatographic method and the content of astragaloside IV was determined by high performance liquid chromatography. **Results:** Big flower Rhodiola Root and Ginseng were identified. The regression equation of astragaloside IV was $Y = 1.694 2X + 4.055 0$ in the range of 1.81~ 18.1 μg , $r = 0.999 7$. The average recovery was 98.09%, RSD was 1.91%. The contents of astragaloside IV in three batches of samples were determined. **Conclusion:** The identification and determination methods established were specific, and repeatable. It could be used to control the quality of this drug.

[Key words] Fufang Jingtian Capsul; TLC; astragaloside IV; assay

复方景天胶囊主要由红景天、人参、黄芪等多味中药经科学提取精制而成。为控制本品质量, 参照有关文献方法^[1,2], 对制剂中红景天、人参进行了薄层鉴别; 采用高效液相色谱法对其所含黄芪甲苷含量进行了测定。

1 仪器与试剂

仪器 高效液相色谱仪(美国 waters 公司: Waters 600 Controller, WatersTM 600 Pump, Waters 996 Photodiode Array Detector)。红景天苷、人参二醇、人

参三醇、黄芪甲苷均由中国药品生物制品检定所提供。薄层层析用硅胶 G(青岛海洋化工化工有限公司), 所用乙腈为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。样品复方景天胶囊由山东省中医药研究院中试基地提供。

2 定性鉴别

2.1 红景天 TLC 鉴别 取本品内容物 0.5 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加甲醇 10 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液作为供试品溶液。取红景天苷对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液, 作为对照品溶液。取缺红景天的阴性样品, 参照供试品溶液的制备方法, 制得缺红景天阴性溶液。吸取上述供试品、缺红景天阴性溶液各 10 μL 、对照品溶液 5 μL , 分别

[收稿日期] 2007-10-25

[通讯作者] * 闫雪生, Tel: (0531) 82949815; E-mail: tcmysx@126.com

点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上,以氯仿-甲醇-丙酮水(6:3:1:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置碘蒸汽中熏。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同的黄色斑点,阴性对照无干扰,见图 1。

2.2 人参 TLC 鉴别 取本品内容物 1 g,加石油醚 20 mL,回流提取 1 h,过滤,残渣加甲醇 20 mL,回流提取 1 h,滤过,水浴蒸干滤液,残渣加 7% 硫酸的 45% 乙醇溶液 20 mL,加热回流 1 h,放冷,滤过,滤液加三氯甲烷 20 mL,提取 1 次,分取三氯甲烷层,水洗至中性,水浴蒸干,甲醇定容至 1 mL,作为供试品溶液。取人参二醇、人参三醇对照品,加甲醇制成每 1 mL 各含 1 mg 的溶液,作为对照品溶液。取缺人参的阴性样品,参照供试品溶液的制备方法,制得缺人参阴性溶液。吸取上述各溶液 10 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,以氯仿-乙醚(1:1)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。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同的紫红色斑点,阴性对照无干扰,见图 2。



图 1 鉴别红景天的 TLC 图
1~3 3 批样品;4 红景天苷;5
缺红景天的阴性样品

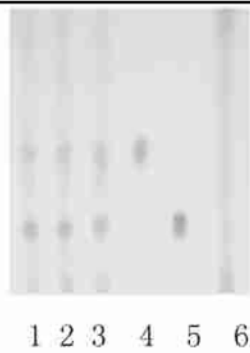


图 2 鉴别人参的 TLC 图
1~3 3 批样品;4 人参二
醇;5 人参三醇;6 缺人
参的阴性样品

3 含量测定

3.1 供试品溶液的制备 取本品内容物适量,研细,取 5 g,精密称定,置索氏提取器中,加石油醚约 100 mL,加热回流提取至提取液变为无色,弃去石油醚提取液,残渣挥去石油醚,再加甲醇约 100 mL,回流提取至提取液变为无色,提取液回收甲醇并浓缩至干,残渣加水 20 mL 溶解,用水饱和正丁醇提取 4 次,每次 40 mL,合并正丁醇液,用氨试液充分洗涤 2 次,每次 30 mL,弃去氨试液,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(内径 2 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 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,加甲醇定容至刻度,摇匀,即得。

3.2 对照品溶液的制备 取黄芪甲苷对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 0.362 mg 的溶液,作为对照品溶液。

3.3 缺黄芪阴性溶液的制备 取缺黄芪的阴性样品,参照供试品溶液的制备方法,制得缺黄芪阴性溶液。

3.4 色谱条件与系统适用性试验 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;乙腈-水(35:65)为流动相;蒸发光散射检测器;漂移管温度 80 $^{\circ}$ C;喷雾器温度 48 $^{\circ}$ C;气体:氮气;增益:100;柱温箱温度:30 $^{\circ}$ C。理论板数按黄芪甲苷峰计算应不低于 4 000。

3.5 阴性干扰试验 分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液与缺黄芪空白溶液各 10 μ L,注入液相色谱仪,结果表明,供试品色谱中,在与对照品色谱相应位置上,有色谱峰,而缺黄芪空白色谱中,在与对照品色谱相应位置上,则未出现明显色谱峰,表明在该 HPLC 测定条件下,黄芪甲苷的测定无明显干扰,见图 3~5。

3.6 线性关系考察 精密吸取上述对照品储备溶液(0.362 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) 5, 10, 15, 20, 50 μ L,注入高效液相色谱仪,测得峰面积积分值,以峰面积积分值的常用对数为纵坐标,进样量(μg)的常用对数为横坐标,绘制标准曲线,进行线性回归,得回归方程为: $Y=1.694 2X+4.802 6$, $r=0.999 7$,结果表明进样量在 1.81~18.1 μg 范围内线性关系良好。

3.7 精密度 精密吸取同一供试品溶液 10 μ L,重复进样 5 次,测定峰面积积分值。结果 RSD 1.16%,表明精密度良好。

3.8 稳定性 精密吸取同一供试品溶液,间隔不同时间进行测定,12 h 内连续测定 5 次,结果供试品溶液稳定, RSD 为 2.10%。

3.9 重复性试验 取同一批样品 5 份,按上述色谱条件测定,分别测定各份样品中黄芪甲苷的含量,结果含量平均值为 0.622 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 为 2.16%。表明样品的重复性良好。

3.10 加样回收率试验 精密称取已知含量的样品 6 份,分别精密加入黄芪甲苷对照品(以溶液形式加入),按上述测定方法进行测定,结果见表 1,平均回收率为 98.09%, RSD 为 1.91%。

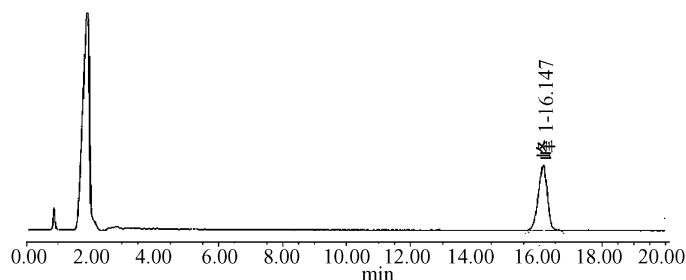


图 3 黄芪甲苷

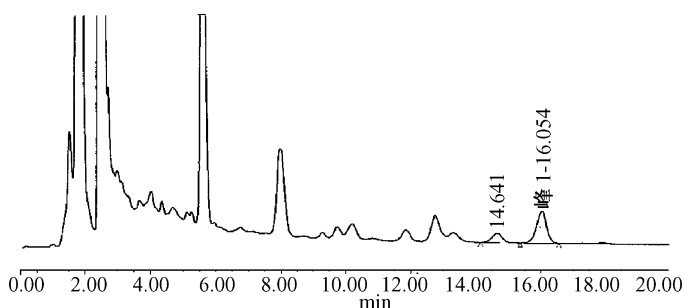


图 4 供试品

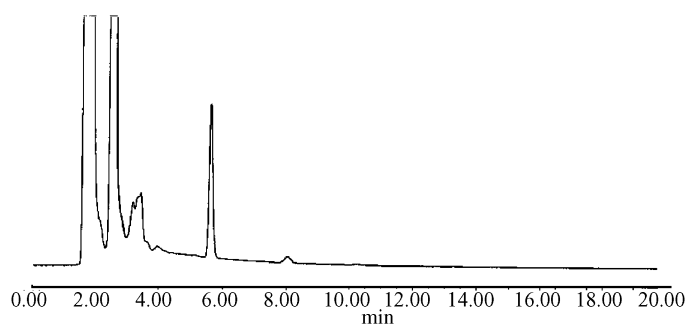


图 5 缺黄芪的阴性样品

表 1 加样回收率试验结果

取样量 (g)	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)
2.676 3	1.664 7	1.52	3.204 8	101.3
2.683 7	1.669 3	1.52	3.175 1	99.07
2.569 5	1.598 2	1.52	3.075 3	97.17
2.523 1	1.569 4	2.01	3.536 2	97.85
2.488 6	1.547 9	2.01	3.486 2	96.43
2.502 7	1.556 7	2.01	3.520 9	97.72

3.11 3 批复方景天胶囊含量测定 按前述方法制备供试品溶液,分别精密吸取供试品溶液 10 μ L 和对照品溶液 10, 20 μ L,注入液相色谱仪,将峰面积及对照品进样量取常用对数后采用外标两点法进行计算,从而求出供试品的含量,结果黄芪甲苷的含量分别为 0.31, 0.30, 0.29 mg/粒。

4 小结和讨论

在鉴别人参时,曾以 Rg1, Rb1 对照品来鉴别人参皂苷,结果发现供试品色谱中背景颜色较深,杂质太多,且阴性有干扰。而采用 7% 硫酸的 45% 的乙醇溶液水解人参皂苷后,以人参二醇、人参三醇对照品进行鉴别时,斑点清晰,符合薄层鉴别的要求。

本品含脂溶性成分较多,在测定黄芪甲苷含量时,需要对样品进行脱脂处理,实验中曾采用先用石油醚回流提取后再用甲醇提取、用甲醇提取后再用石油醚萃取及先用氯仿回流提取后再用甲醇提取等方法,结果表明热提取的脱脂效果要好一些,氯仿和石油醚的脱脂效果差别不大,故采用先用石油醚回流提取后再用甲醇提取的方法。

本实验采用 D101 型大孔吸附树脂来分离纯化黄芪甲苷,纯化后的样品的 HPLC 图谱中,杂质峰较少且与黄芪甲苷峰有良好分离。

含黄芪制剂中黄芪甲苷含量多采用薄层扫描法,但其操作繁琐,重复性差,而高效液相分离效果好,但黄芪甲苷最大吸收波长为 200.8nm,如用紫外检测器检测试剂影响较大,分析很难进行。蒸发光散射检测器为质量型检测器,不受外部环境干扰,试剂在检测器中全部蒸发,不干扰测定,灵敏度、稳定性及重复性能够符合测定要求,为本制剂质量控制提供了依据。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部,北京:化学工业出版社,2005. 106, 212.
- [2] 刘秀梅,郑诗静,李静辉,等. 定坤丹中的人参与三七的薄层色谱鉴别[J]. 吉林中医药,1996, (5): 34.