

降脂宁颗粒质量标准的研究

刘超, 陈蕴, 王林, 龚立雄
(河南省中药研究所, 河南 郑州 450004)

摘要: 目的: 制定降脂宁颗粒的质量标准。方法: 采用薄层色谱鉴别山楂、何首乌、决明子; 高效液相色谱法。测定样品中二苯乙烯苷的含量, 平均加样回收率为 103.3%, *RSD* 为 1.93%。结论: 该方法为降脂宁颗粒的质量控制提供了依据。

关键词: 降脂宁颗粒; 二苯乙烯苷; 高效液相色谱法; 薄层色谱

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2002)06-0016-03

降脂宁颗粒收载于部颁标准(第十三册)^[1], 由山楂、制何首乌、决明子、荷叶组成, 具有降血脂, 软化血管的功能, 用于增强冠状动脉血液循环, 抗心律不齐及高血压。该药品缺少必要的质量控制指标, 为控制产品质量, 本文建立了山楂、制何首乌、决明子的薄层色谱鉴别。二苯乙烯苷是何首乌的特征成分, 其测定方法有 HPLC 法^[2,3], 因此, 我们采用高效液相色谱法对制剂中何首乌的有效成分 2, 3, 5, 4-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷进行了含量测定。

1 材料与仪器

降脂宁颗粒及其空白样品由河南兴邦药业有限公司提供; 何首乌、决明子对照药材, 熊果酸、二苯乙烯苷对照品由中国药品生物制品检定所提供; 硅胶 G、硅胶 H 购自青岛海洋化工厂; 乙腈为色谱纯, 水为双蒸水, 其余试剂均为分析纯。

LC-10Avp 高效液相色谱仪(日本岛津)。

2 薄层色谱鉴别

2.1 山楂 取本品 2 袋, 研细, 称取 15g, 加醋酸乙酯 40ml, 超声 30min, 滤过。滤渣加醋酸乙酯 20ml, 超声 15min, 滤过, 合并滤液, 浓缩至 2ml, 为供试品溶液。同法制备缺山楂的空白对照液。另取熊果酸对照品, 加甲醇制成每 1ml 含 0.5mg 的溶液, 作为对照品溶液。吸取供试品溶液和空白对照液各 20 μ l 与对照品溶液 5 μ l, 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-醋酸乙酯-甲酸(15:2:1)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, 显相同颜色的斑点。空白样品无干扰。

2.2 决明子 取本品 2 袋, 研细, 称取 10g, 加正己烷 30ml, 超声处理 30min, 滤过, 滤液浓缩至 1ml, 为供试品溶液。同法制备缺决明子的空白对照液。另取决明子对照药材 0.5g, 加正己烷 10ml, 超声处理 30min, 滤过, 滤液浓缩至 0.5ml, 为对照品溶液。吸取供试品溶液和空白对照液各 2 μ l 与对照品溶液 15 μ l, 分别点于同一以羧甲基纤维素钠为粘合剂的硅胶 G 薄层板上, 以正己烷-醋酸乙酯-甲酸(10:1:1)的上层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外灯下观察或氨蒸气中熏至斑点显色清晰。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。空白样品无干扰。

2.3 何首乌 取本品 2 袋, 研细, 称取 15g, 加甲醇 30ml, 超声处理 30min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加 0.5% 氢氧化钠溶液 10ml 使溶解, 滤过, 滤液用盐酸调节至酸性, 用醋酸乙酯提取 2 次, 每次 15ml, 合并醋酸乙酯液, 蒸干, 残渣加醋酸乙酯 1ml 使溶解, 为供试品溶液。同法制备缺何首乌的空白对照液。另取何首乌对照药材 0.3g, 加乙醇 40ml, 回热回流 1h, 滤过, 滤液浓缩至干, 残渣加乙醇溶解成 2ml, 为对照药材溶液。吸取上述三种溶液各 15 μ l, 分别点于硅胶 H 薄层板上使成条状, 以苯-乙醇(2:1)为展开剂, 展至约 3.5cm, 取出, 晾干, 再以苯-乙醇(4:1)为展开剂, 展至约 7cm, 取出, 晾干, 置紫外灯(365nm)下检视。在供试品色谱的下部, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显天蓝色的荧光条斑; 再喷以磷钼酸试液, 稍加热, 在日光下, 供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显蓝色的条斑。空白样品无干扰。

3 含量测定

3.1 溶液的制备

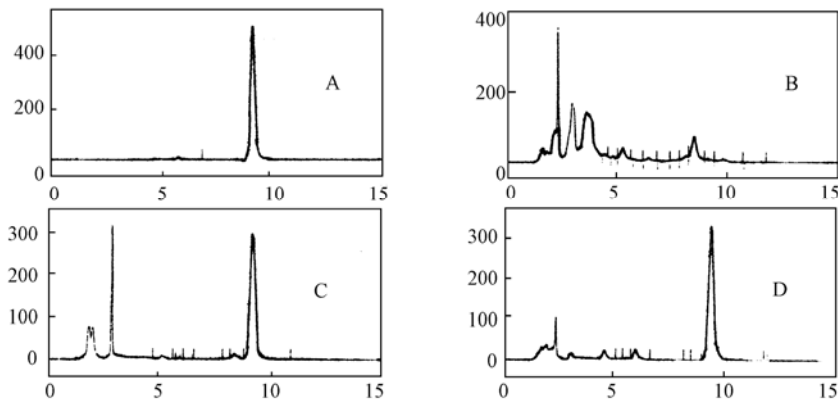
3.1.1 对照品溶液的制备 精密称取 2, 3, 5, 4-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷对照品, 置棕色容量瓶中, 加 50% 乙醇制成每 1ml 含 0.2mg 的溶液。

3.1.2 供试品溶液的制备 取样品 3 袋, 研细, 过 40 目筛, 精密称取 10g, 置三角瓶中, 加甲醇 15ml, 超声提取 10~15min, 小心过滤至 25ml 棕色容量瓶中, 再加甲醇 10ml, 超声提取 10min, 过滤, 滤渣及滤器用甲醇洗涤 5 次(3.2.1.1, 1ml), 加甲醇至刻度, 摇匀,

上清液经 0.45μ 滤膜过滤即得。

3.1.3 空白对照液的制备 取缺何首乌的空白样品, 照制剂供试溶液制备方法制备。

3.2 色谱条件 C₁₈ 色谱柱(4.6mm × 200mm, 5μm)(大连依利特); 流动相: 乙腈-水(20: 80); 流速: 1ml/min; 柱温: 25℃; 检测波长: 320nm; 理论塔板数: 应不低于 5000。在上述条件下, 样品中二苯乙烯苷达到基线分离, 空白无干扰, 见图 1。



A. 对照品色谱图 B. 空白色谱图 C. 样品色谱图 D. 药材色谱图

图 1 HPLC 色谱图

3.3 标准曲线的绘制 精密称取二苯乙烯苷对照品 10.5mg, 置 25ml 棕色容量瓶中, 加 50% 乙醇溶解并定容至刻度, 浓度 0.42mg/ml。精密吸取上述对照品液 2.3.4.5.6.7.8.9.10μl, 进样, 测定色谱峰面积, 回归方程: $A = 3690412X - 9499.05$, $r = 0.9999$, 线性范围: 0.84μg~4.20μg。

3.4 精密度试验 精密吸取样品溶液 15μl 重复进样 5 次, 测得其含量平均值为 0.241mg/g, RSD% 为 0.6。

3.5 稳定性试验 精密吸取样品溶液 15μl, 每隔一定时间进样一次, 连续试验 150h, 测得其含量平均值为 0.239mg/g, RSD% 为 1.22。

3.6 提取条件的选择

3.6.1 提取方法的选择 精密称取样品 10g 6 份, 3 份加水适量溶液, 加甲醇定容至 25ml, 放置使沉淀, 取上清液过 0.45μ 滤膜备用; 另 3 份加甲醇用超声提取, 洗涤三次, 加甲醇定容至 25ml, 取上清液过 0.45μ 滤膜备用。上述两种溶液进样 15μl, 依法测定, 其峰面积沉淀法为 3272141($n = 3$), 超声法为 3462108($n = 3$), 结果甲醇超声法稍优于水溶甲醇沉淀法。

3.6.2 超声提取条件的考察 (1) 样品加甲醇 20ml 超声 10min; (2) 样品加甲醇 25ml 超声 20min; (3) 样品加甲醇 25ml 超声 30min; (4) 样品加甲醇 10.10.5ml, 分别超声 10min; (5) 样品加甲醇 15.10ml, 分别超声 10min; 以上均洗涤三条, 定容 25ml; (6) 样品加甲醇 15.10ml, 分别超声 15.10min, 洗 5 次(3.2.1.1, 1ml), 定容 25ml。上述六种溶液依法测定, 结果以 6 号较好, 见表 1。

表 1 提取条件的考察

试验号	1	2	3	4	5	6
峰面积	3677699	4267497	4037427	3736953	4339685	5029294
	3818856	4305409	4044948	3710840	4371890	5232662

2.2.7 重现性试验 精密称取同一批样品 7 份, 测得其含量平均值为 0.240mg/g, RSD% 为 1.3。

2.2.8 回收率试验 精密称取经测定的样品(含量 0.204mg/g) 粉末 4g 6 份, 在其中加入对照品 0.63.1.26.1.89mg 各 2 份, 依法提取定容至 10ml, 进样量 10μl, 测定结果见表 2。

2.2.9 样品测定 精密吸取对照品溶液和供试品溶液 10μl 和 5μl, 注入液相色谱仪, 计算即得。见表 3。

(下转第 31 页)

(上接第 17 页)

表 2 加样回收率试验

称样量 (g)	样品含 量(mg)	对照品 量(mg)	测定总 量(mg)	回收量 (mg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
4.0002	0.816	0.630	1.477	0.661	104.9		
4.0000	0.816	0.630	1.453	0.637	101.1		
4.0004	0.816	1.260	2.131	1.315	104.4	103.3	1.93
4.0003	0.816	1.260	2.145	1.329	105.5		
4.0005	0.816	1.890	2.761	1.945	102.9		
4.0003	0.816	1.890	2.958	1.906	100.8		

表 3 样品测定结果($n=2$)

批号	含量(mg/g)
20000401	0.202
2000402	0.232
2000403	0.241

3 讨论

3.1 本品处方中有何首乌和决明子,两味均含有蒽醌类有效成分,如按常规方法(甲醇提取,醋酸乙酯

萃取)提取,样品与空白有干扰。实验参考清脑降压丸^[3]中决明子的鉴别方法,取得满意的结果,并且操作简便,空白无干扰。

3.2 药典收载的何首乌药材的流动相为乙腈-水(25:75),应用于本品的分析,未能达到基线分离,经变换比例(22:78)和(20:80),以(20:80)分离效果最好。

3.3 对照品甲醇溶液置棕色瓶中保存于冰箱内,1周内稳定,此结果与文献报道一致^[2]。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准(第十三册)[J]. 1996, 116.
- [2] 陆蕴如, 邓巧虹, 车秋芳, 等. 何首乌及其制剂中 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯甙-2-O- β -D-葡萄糖甙含量测定研究[J]. 北京中医药大学学报, 1998, 21(6): 31.
- [3] 中华人民共和国药典, 一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 139, 594.