

益发酊中二苯乙烯苷的鉴别与含量测定

马平勃¹, 陈菲菲², 段芳¹

(南方医科大学 1. 南方医院药学部; 2. 2005 级, 广州 510515)

摘要 目的 建立益发酊中二苯乙烯苷的质量控制标准。方法 采用薄层色谱法对益发酊中制首乌的活性成分二苯乙烯苷进行定性鉴别; 采用高效液相色谱法, 以 Hypersil BDS-C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm) 为固定相, 乙腈-水(25:75) 为流动相, 检测波长 320 nm, 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 柱温为室温, 测定益发酊中二苯乙烯苷的含量。结果 制首乌经相应的薄层鉴别方法展开后显示与对照药材和对照品在相同的位置有相同颜色的特征斑点。益发酊中二苯乙烯苷的高效液相色谱峰与其他峰分离度良好, 在 5.02~80.32 μg 线性关系良好, $r=0.9994$; 样品平均回收率为 98.36%, RSD 为 1.56%。结论 该文所建方法简便准确, 重复性好, 可以作为益发酊中二苯乙烯苷的质量控制标准。

关键词 益发酊; 二苯乙烯苷; 色谱法; 高效液相; 薄层色谱

中图分类号 R927.2 文献标识码 B 文章编号 1004-0781(2012)01-0084-03

益发酊(曾用名:生发灵酊)是南方医科大学南方医院研制的一种纯中药复方外用制剂,由制首乌、当归、红花、侧柏叶、赤芍等药材精制而成。具有活血化瘀,促进头皮血液循环等功效^[1]。益发酊中的制首乌特有的生物活性成分为二苯乙烯苷^[2],经研究发现能够影响黑色素的生成^[3]。为深入研究益发酊,笔者采用高效液相色谱(HPLC)法对益发酊中二苯乙烯苷进行了含量测定,并进行薄层色谱(TLC)定性鉴别,旨在建立益发酊中二苯乙烯苷的质量控制标准,为制剂生产提供科学依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Waters 996 型高效液相色谱仪,薄层扫描仪(半自动点样仪 linomat-5,瑞士卡玛公司),R200D 电子天平(德国托普仪器有限公司),BG 型超纯水仪,DZF-6020 真空干燥箱。

1.2 试剂 二苯乙烯苷对照品(购自中国药品生物制品检定所,批号:110844-200606),益发酊处方药材均购自广州市药材公司(已鉴定),硅胶 G 板(青岛海洋化工厂),乙醇为医用乙醇,水为纯化水或超纯水,乙腈(天津四友生物医学技术有限公司)为色谱纯,正丁醇、95%乙醇(广州化学试剂厂)为分析纯,其他试剂均为分析纯,益发酊(自制)。

2 方法与结果

2.1 制首乌薄层色谱鉴别

2.1.1 益发酊样品溶液的制备 依益发酊处方比例称取药材,根据正交设计优选工艺提取,过滤,滤液即为益发酊样品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 精密量取益发酊样品溶液 20 mL 置于水浴上蒸干,加纯化水 15 mL 溶解完全,再用水饱和正丁醇分别萃取 2 次,每次 15 mL,合并两次萃取液,于水浴上蒸干,残渣加乙醇 1.5 mL 使溶解,滤过,滤液作为供试品溶液。

2.1.2 阴性对照溶液的制备 按益发酊处方比例称取除制首乌以外各方药药材,照“2.1.1”项下方法制成缺制首乌的制首乌阴性对照溶液。

2.1.3 对照药材溶液的制备 称取制首乌对照药材 2 g,加乙醇 15 mL。加热回流 1 h,滤过,滤液照“2.1.1”项下方法制成制首乌对照药材溶液。

2.1.4 二苯乙烯苷对照品溶液制备 精密称取二苯乙烯苷适量,加 75% 乙醇溶解,制成 0.1 mg·mL⁻¹ 的溶液,滤过,滤液即为二苯乙烯苷对照品溶液。

2.1.5 TLC 鉴别 吸取上述二苯乙烯苷对照品溶液 5 μL,其他 3 种溶液各 1 μL,分别点于同一个硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-甲醇(2:1)为展开剂,饱和 15 min,展开,取出晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与制首乌对照药材和二苯乙烯苷对照品相应的位置上显相同的蓝色斑点,阴性对照溶液无此斑点,色谱板斑点清晰,分离度良好(图 1)。

2.2 二苯乙烯苷的含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱:Hypersil BDS C₁₈ 分析柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm),流动相:乙腈-水(25:75);检测波长:320 nm;流速:1 mL·min⁻¹;柱温:室温;进样量:10 μL,理论板数按二苯乙烯苷峰计算应不低于 4 000。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取二苯乙烯苷对照品(经真空干燥至恒质量)5.02 mg 置 50 mL 量瓶中,加 75% 乙醇溶解并定容至刻度,摇匀,微孔滤膜(孔径 0.2 μm)滤过,滤液即为二苯乙烯苷对照品溶

收稿日期 2010-12-05 修回日期 2011-01-20

作者简介 马平勃(1964-),男,河北保定人,副主任药师,硕士,主要从事医药制剂研制与生产。电话:020-62787218, E-mail:zgt6868@fimmu.com。

液,浓度为 $100.4 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。



图 1 4 种溶液的 TLC 图

1. 二苯乙烯苷对照品溶液;2. 制首乌对照药材溶液;3. 供试品溶液;4. 制首乌阴性对照溶液

2.2.3 供试品溶液制备 照“2.1.1”项下方法制备益发酊样品溶液,精密量取益发酊样品溶液 5 mL,用 75% 乙醇稀释并定容至 25 mL 量瓶中,微孔滤膜(孔径 $0.2 \mu\text{m}$)滤过,即得供试品溶液,备用。

2.2.4 阴性对照品溶液制备 按照益发酊处方分别称取缺制首乌阴性样品 3 份,按“2.2.3”项下方法制成二苯乙烯苷阴性对照溶液,备用。

2.2.5 专属性实验 将供试品溶液、二苯乙烯苷对照品溶液和阴性对照溶液分别注入液相色谱仪中,按“2.2.1”项下色谱条件进行测定,结果阴性对照溶液在二苯乙烯苷对照品相同保留时间处未显示明显色谱峰,表明处方中其他药味对测定结果无干扰。供试品中的二苯乙烯苷完全达到基线分离,与相邻峰的分度度 >1.5 ,见图 2。

2.2.6 线性关系考察 分别取对照品溶液 0.5,1.0,2.0,4.0,8.0 mL 置于 10 mL 量瓶,用 75% 乙醇稀释并定容到刻度,摇匀,微孔滤膜(孔径 $0.2 \mu\text{m}$)滤过,精密吸取 $10 \mu\text{L}$,分别进样,照“2.2.1”项下色谱条件测定,以二苯乙烯苷浓度($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程: $Y=6.79 \times 10^4 X-2.37 \times 10^4 (r=0.9994)$,结果表明二苯乙烯苷 $5.02 \sim 80.32 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度范围内峰面积与浓度之间呈良好的线性关系。

2.2.7 精密密度实验 取供试品溶液,按照标准曲线测定方法项下的色谱条件重复进样 5 次,记录二苯乙烯

苷峰面积,计算得二苯乙烯苷峰面积 RSD 为 2.11% ($n=5$),表明仪器精密密度良好。

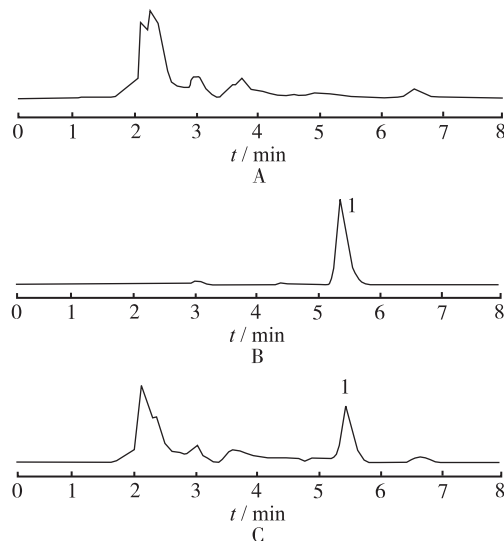


图 2 阴性样品(A)、对照品(B)和供试品(C)的 HPLC 图

A. 阴性样品;B. 对照品;C. 供试品;1. 二苯乙烯苷

2.2.8 稳定性实验 取供试品溶液,分别于 0,1,2,4,8 h 按照标准曲线测定方法项下的色谱条件进样 5 次,记录二苯乙烯苷峰面积,计算得二苯乙烯苷峰面积 RSD 为 1.98%,表明供试品溶液在 8 h 内稳定性良好。

2.2.9 重复性实验 按照益发酊处方分别称取各药材 6 份,照“2.2.3”项下方法制成 6 份供试品溶液,分别照“2.2.1”项下色谱条件测定,测得供试品溶液中二苯乙烯苷峰面积,计算二苯乙烯苷含量分别为 $40.53, 41.35, 39.58, 40.71, 41.44, 39.93 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,平均含量为 $40.60 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,RSD 为 1.83% ($n=6$),表明本此实验方法重复性良好。

2.2.10 加样回收实验 按照益发酊处方分别称取各药材 6 份,分别加入已知含量的二苯乙烯苷对照品,照“2.2.3”项下方法制成 6 份供试品溶液,分别照“2.2.1”项下色谱条件测定,计算平均回收率为 98.36%,RSD 为 1.56%。结果见表 1。

表 1 二苯乙烯苷加样回收率实验结果

实验号	原有量	加入量	测得量	回收率/ %
	μg			
1	39.08	40.12	78.48	98.21
2	39.58	40.12	79.54	99.60
3	40.71	40.12	79.69	97.16
4	39.75	40.12	79.64	99.43
5	39.27	40.12	79.30	99.78
6	39.12	40.12	77.63	95.99

2.2.11 样品的含量测定 取3个批号的样品,每个批号取3份,照“2.2.1”项下色谱条件测定。结果批号为20090218,20090223,20090315样品中二苯乙烯苷含量分别为199.25,200.10,196.35 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,平均198.57 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,RSD=1.73%。

3 讨论

益发酊由多味中药组成,采用75%乙醇提取,成分复杂,且高温条件对二苯乙烯苷的稳定性有一定的影响,故本实验采用水饱和正丁醇从益发酊中萃取二苯乙烯苷,杂质成分少,经展开剂展开晾干后应立即置于紫外灯下检视,避免被氧化使斑点变淡。

本实验采用HPLC法测定二苯乙烯苷的含量,文献[4-6]中多采用乙腈-水做流动相,本次实验对多种比例的乙腈-水进行比较,结果表明以乙腈-水(25:75)时分离效果最佳,出峰时间短,柱效高。

本实验为建立益发酊中二苯乙烯苷的质量控制标准。制首乌中活性成分二苯乙烯苷的薄层鉴别斑点清晰,分离结果满意,边缘效应小,灵敏度高;含量测定方法具有准确、稳定、简便等优点。

目前以二苯乙烯苷为检测指标的生发制剂中多为内服固体制剂(片剂、丸剂、颗粒剂、胶囊剂),而外用生发溶液制剂笔者尚未见文献报道该项检测。

参考文献

[1] 马平勃.生发灵酊活血化痰及促毛发生长作用的实验研究[J].第一军医大学学报,2002,22(5):421-424.
 [2] 余纪芬.首乌生发丸治疗斑秃50例[J].四川中医,2002,20(3):65.
 [3] GUAN S,SU W,WANG N, et al. Effects of radix polygoni multiflori components on tyrosinase activity and melanogenesis[J]. J Enzyme Inhib Med Chem, 2008, 23(2):252-255.
 [4] 廖朝峰,吴清萍,谢红亮.反相高效液相色谱法测定养血生发胶囊中2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-D-葡萄糖苷[J].中国药房,2005,16(5):381-382.
 [5] 李彩荣,杨庆胜.HPLC测定滋补生发片中二苯乙烯苷的含量[J].中成药,2005,27(11):附1-2.
 [6] 李林晓,牛兰玲,李菊.高效液相色谱法测定益肾生发丸中二苯乙烯苷含量[J].中国药业,2005,15(19):38.
 DOI 10.3870/yydb.2012.01.033

小儿宝泰康颗粒中浙贝母浸膏制备工艺改进

陈康

(湖北省妇幼保健院药剂科,武汉 430070)

摘要 目的 优化小儿宝泰康颗粒中浙贝母的最佳提取工艺。方法 采用正交实验,以浙贝母总生物碱的提取量为指标,以药材前处理方法、浸润时间、乙醇用量、回流时间为因素进行正交实验。结果 优选出小儿宝泰康颗粒中浙贝母最佳提取工艺为整粒,提取前浸润12 h,加6倍量70%乙醇,每次提取2 h。提取液浓缩成稠膏后,在降温过程中加入浸膏量0.1倍70%乙醇作稳定剂。结论 该提取工艺合理,浸膏稳定剂安全可行,为小儿宝泰康颗粒中浙贝母的浸膏制备提供了科学依据。

关键词 小儿宝泰康颗粒;浙贝母;正交实验;浸膏稳定剂

中图分类号 R286; **文献标识码** A **文章编号** 1004-0781(2012)01-0086-03

小儿宝泰康颗粒为原卫生部批准的国家三类新药,具有解表清热、止咳化痰的作用,用于小儿风热外感症状。该产品原标准浙贝母乙醇提取液直接投料,因为其浓缩后生产易形成焦块而损失,影响产品质量。为了保证有效成分的提取效率,笔者以总生物碱含量为指标,选取药材前处理方法、浸润时间、乙醇用量、回流时间等,用正交实验法选取最佳提取工艺,并对浓缩

工艺进行研究^[1-3]。

1 仪器与试剂

7520型紫外分光光度计,岛津LG-10AT高效液相色谱仪;检测器:SPD-10Av;超声波清洗器CX-100(北京医疗设备二厂);HH-6数显恒温水浴器(常州国华电器有限公司)。浙贝母药材购自亳州药材市场,贝母素甲对照品由中国药品生物制品检定所提供,所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 总生物碱的测定

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取在100℃干燥至恒质量的贝母素甲对照品9 mg,置25 mL量瓶中,加0.

收稿日期 2011-03-01 修回日期 2011-05-24

作者简介 陈康(1971-),男,广东南澳人,主管药师,学士,研究方向:药学及药物的临床应用。电话:027-87169523, E-mail:chenkang226@263.net。