

中药

现代质量标准研究 下册

主编 肖树雄



 羊城晚报出版社

中药现代质量标准研究

下册

主 编	肖树雄			
副 主 编	洪俊荣	罗梓河	赖育健	
编 委	林伟忠	陈浩桢	王建中	黄诺嘉
	彭继烽	李倚岳	陈茂堂	余鸿生
编写人员	王晓钰	杨文红	郑剑红	方宝耿

羊城晚报出版社

·广 州·

图书在版编目(CIP)数据

中药现代质量标准研究/肖树雄主编. —广州:羊城晚报出版社,2004.6

ISBN 7-80651-328-0

I. 中… II. 肖… III. 中药材-质量标准-研究

IV. R282

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2004)第 017807 号

中药现代质量标准研究

ZhongYao XianDai ZhiLiang BiaoZhun YanJiu

出版发行:羊城晚报出版社(广州市东风东路 733 号 邮编:510085)

发行部电话:(020)87776211 转 3824

经 销:广东新华发行集团股份有限公司

印 刷:广东惠阳印刷厂(惠州市南坛西路 17 号 邮编 516001)

规 格:850 毫米×1 168 毫米 1/16 印张 45 插页 8 字数 1 060 千

版 次:2004 年 6 月第 1 版 2004 年 6 月第 1 次印刷

印 数:1~1 500 册

书 号:ISBN 7-80651-328-0/R·97

定 价:150.00 元

版权所有 违者必究(如发现因印装质量问题而影响阅读,请与承印厂联系调换)

目 录

上 册

第一篇 总论	(1)
一、中药的概念和中药的质量问题	(3)
二、中药的质量控制	(7)
三、中药质量标准研究的发展概况	(15)
四、中药材品种对中成药质量的影响	(17)
五、现行中药质量标准存在的问题	(20)
六、质量标准研究中的现代分析技术方法	(21)
七、薄层色谱扫描在中药定量分析中的应用	(22)
八、中药质量标准研究的发展方向	(24)
九、中药现代质量标准研究是中药走向世界的关键	(25)
第二篇 中药材现代质量标准研究	(27)
一、女贞子	(29)
二、山茱萸	(40)
三、天花粉	(55)
四、巴戟天	(66)
五、冰片	(69)
六、地骨皮	(77)
七、西红花	(85)
八、西洋参	(95)
九、防风	(106)
十、补骨脂	(114)
十一、板蓝根	(125)
十二、前胡	(129)
十三、珍珠	(141)
十四、绞股蓝	(145)
十五、秦皮	(152)
十六、高良姜	(160)
十七、淫羊藿	(171)
十八、菟丝子	(181)
十九、溪黄草	(192)

二十、酸枣仁	(197)
第三篇 中药指纹图谱质控技术研究	(215)
一、概述	(217)
二、九如天宝液	(231)
三、三七	(234)
四、三七注射液	(237)
五、大黄	(241)
六、丹参	(244)
七、双黄连制剂	(249)
八、白芍	(253)
九、白屈菜	(256)
十、白茅根	(260)
十一、灯盏花	(264)
十二、红花(HPCE)	(267)
十三、红花(HPLC)	(270)
十四、血栓通注射液	(273)
十五、连翘	(276)
十六、肾康注射液	(281)
十七、降香	(283)
十八、鱼腥草注射液	(286)
十九、复方人参注射液	(289)
二十、银杏叶注射液	(292)
二十一、鉴别人参、西洋参及三七	(294)
二十二、鬼臼与威灵仙、龙胆的鉴别	(296)

下 册

第四篇 中成药现代质量标准研究	(303)
一、概述	(305)
二、九香气雾剂	(311)
三、三七接骨丸	(313)
四、女洗宝洗液	(315)
五、小儿清肺口服液	(318)
六、小儿感冒退热糖浆	(320)
七、山芎茶胶囊	(324)
八、山豆根合剂	(327)
九、中风回言胶囊	(330)
十、丹参洗剂	(333)

十一、乌龙减肥茶	(336)
十二、元胡止痛口服液	(338)
十三、六味降糖片	(340)
十四、六神丸	(343)
十五、凤宝胶囊	(345)
十六、月阳生发液	(348)
十七、止血灵胶囊	(351)
十八、止咳橘红口服液	(353)
十九、仙灵骨葆胶囊	(357)
二十、卡通片	(360)
二十一、古汉养生精	(363)
二十二、石淋止痛剂	(366)
二十三、龙胆泻肝颗粒	(368)
二十四、壮骨肾宝胶囊	(372)
二十五、妇斑消胶囊	(375)
二十六、安清益智胶囊	(377)
二十七、红山健儿口服液	(380)
二十八、芍菊上清丸	(382)
二十九、血栓通注射液	(385)
三十、利尿胶囊	(388)
三十一、护胃颗粒	(391)
三十二、更年乐颗粒剂	(394)
三十三、杜仲养身液	(397)
三十四、补肾明目口服液	(399)
三十五、补肾强身胶囊	(402)
三十六、补脑胶囊	(404)
三十七、乳宁颗粒	(406)
三十八、乳核消胶囊	(408)
三十九、参芪养生膏	(412)
四十、参芪脑清颗粒	(416)
四十一、参苏口服液	(420)
四十二、参苓祛斑涂膜	(422)
四十三、参芪降脂胶囊	(425)
四十四、和络舒肝胶囊	(426)
四十五、治喘帖	(429)
四十六、泌尿宁颗粒	(432)
四十七、泌尿康胶囊	(434)
四十八、泻肝安神胶囊	(436)
四十九、泽兰合剂	(440)
五十、炎痛消栓	(443)
五十一、肤肌净	(444)
五十二、肤净康洗液	(447)

五十三、肾泰颗粒	(449)
五十四、肾康栓	(452)
五十五、视明宝颗粒	(455)
五十六、金马通络胶囊	(459)
五十七、金水六君煎胶囊	(463)
五十八、金花消痤胶囊	(466)
五十九、金前感冒胶囊	(471)
六十、金香丹片	(472)
六十一、金脂泰胶囊	(475)
六十二、降脂宁颗粒	(480)
六十三、降脂胶囊	(483)
六十四、降脂靖血胶囊	(485)
六十五、保和丸(浓缩丸)	(488)
六十六、前列腺炎颗粒	(490)
六十七、前列腺栓	(492)
六十八、复方丹参片	(495)
六十九、复方升白胶囊	(498)
七十、复方水蛭口服液	(500)
七十一、复方北虫草胶囊	(503)
七十二、复方玉驹胶囊	(506)
七十三、复方生发灵洗液	(509)
七十四、复方血竭止痛擦剂	(512)
七十五、复方垂盆草冲剂	(515)
七十六、复方蛇脂软膏	(518)
七十七、枳实导滞浓缩丸	(522)
七十八、活血通痹袋泡剂	(525)
七十九、活骨颗粒	(527)
八十、盆腔炎颗粒	(530)
八十一、祛白片	(534)
八十二、胃舒宁颗粒	(537)
八十三、胆胰康泰散	(540)
八十四、脉心康	(542)
八十五、荜铃胃痛颗粒	(544)
八十六、香砂平胃丸	(546)
八十七、香荷止痒软膏	(548)
八十八、健胃整肠丸	(552)
八十九、消脂平片	(556)
九十、消癥止痛颗粒	(558)
九十一、益肾丸	(562)
九十二、脑灵素片	(564)
九十三、通脉颗粒	(568)
九十四、通窍鼻炎片	(571)

九十五、通督活血片	(573)
九十六、救急行军胶囊	(578)
九十七、梗塞通颗粒	(583)
九十八、清肝颗粒	(586)
九十九、清肠合剂	(589)
一〇〇、清肺饮口服液	(592)
一〇一、清热口服液	(593)
一〇二、清热泻火颗粒	(597)
一〇三、银屑胶囊	(600)
一〇四、鹿胎八珍晶	(602)
一〇五、黄连上清片	(605)
一〇六、黄精赞育胶囊	(608)
一〇七、强身灵口服液	(611)
一〇八、散结颗粒	(613)
一〇九、斑龙胶囊	(616)
一一〇、斑秃生发颗粒	(619)
一一一、筋骨痛消丸	(622)
一一二、脾胃康胶囊	(625)
一一三、舒心通脉片	(627)
一一四、舒通胶囊	(629)
一一五、葆春长寿灵胶囊	(633)
一一六、愈伤灵胶囊	(636)
一一七、愈痹丸	(639)
一一八、感冒消炎片	(641)
一一九、痰喘消胶囊	(644)
一二〇、解郁止痛颗粒	(647)
一二一、滴林鼻炎水	(651)
一二二、精气神营养素	(654)
一二三、鼻炎胶囊	(657)
一二四、糖脂康胶囊	(659)
一二五、糖康安颗粒	(663)
一二六、薄荷通吸入剂	(666)
一二七、癌肿消一号	(670)
附录	(674)
附录一 中药新药质量标准研究的技术要求	(674)
附录二 中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)	(678)
附录三 本书主要参考文献	(683)
附录四 本书主要仪器一览表	(688)
附录五 主要中药化学成分检索表	(691)

第四篇

中成药现代质量标准研究



一、概述

随着市场经济的高速发展,药品市场竞争日益激烈,出现了生产、销售及购药使用等环节的相应变化,导致中成药质量不稳。目前,我国中成药品种和剂型繁多,应用范围较广,但因中成药处方组分多,加之原药材本身成分复杂,故给制定中成药质量标准及检验方法造成很大困难。

就现阶段的中成药质量标准而言,与化学药品质量标准的不同之处在于它还不是可以据以直接评价疗效的标准,只能是作为药品生产部门检查药厂上市产品真伪优劣的尺度和依据。制定的各个项目和测试数据,作为在新药研制的临床试验阶段,保证整个临床观察或验证期间不同批次的样品之间内在质量一致和稳定;在生产阶段,控制同一品种的药品质量是否一致和稳定;也可作为上市药品质量监督检验及药品质量再评价的依据。

(一)中成药的质量标准研究

1. 鉴别 现在一般仅仅作为判断真伪的项目,并不能全面反映全处方的信息。从发展趋势看,对制剂作“全成分”的色谱图像分析或指纹图谱分析,可能更适应中医传统理论的需要。关于图像分析或指纹图谱分析已有不少人进行过研究,但至今似乎很少能实际应用到商品分析,并纳入质量标准中,其根源在于这一方面的基础研究工作还是太少。

2. 含量测定 中成药制剂的定量分析是其质量标准的一个重要内容,对保证临床用药的安全有效有着特殊的重要意义,但定量分析历来是中成药质量标准的薄弱环节,以近几版《中国药典》为例,中成药制剂中含量测定项目所占比例:1977年版占1.48%,1985年版占5.31%,1990年版占8.73%,1995年版占12.81%。所以,中成药制剂中定量分析内容的研究,在相当长的时期内,仍是一个艰巨的任务。

(1) 指标性成分的选取 中成药制剂的化学成分非常复杂,到目前为止,对有效成分的了解仍十分有限,这在很大程度上限制了对中成药制剂进行准确的含量测定。

指标性成分的理化性质:溶于水;稳定;不因煎煮而破坏;不易挥发;专属性强。中成药化学研究的进展,改变了一些常用药的指标性成分的选取。如大青叶或板蓝根的制剂,《中国药典》仅规定测定其中靛玉红的含量,但靛玉红的脂溶性较强,现有的制剂生产工艺很难选取,有专家发现大青叶、板蓝根中含有的喹唑酮成分,具有抗病毒活性,且溶于水及乙醇,符合制剂的提取制备工艺,含量稳定,有代表性,适用于作为此类中成药制剂质量控制的指标性成分。

(2) 分析方法 几乎所有的分析方法都可用于中成药制剂的含量测定。越来越多的仪器分析方法应用于中成药制剂中各类有效成分的含量测定。目前应用较为广泛的是光谱法和色谱法。中成药制剂多系复方组成,所含成分十分复杂,色谱法具有分离和定量双重功能,所以应用较为普遍,结果也较满意。高效液相色谱法(HPLC)是中成药制剂质量评价中较常用的分析方法,结合使用不同类型的检测器,如紫外检测器(UV Detector),二极管阵列检测器(DAD),荧光检测器(FD),示差检测器,闪射光蒸发检测器(ELSD),质谱检测器(MS),对各类成分均能作很好的分析研究。但HPLC的使用有时也受到限制,分析时间长,

指标性成分易受杂质干扰、结果不好,柱易污染、难于清洗等。毛细管电泳法(CE)是新近发展起来的分析技术,目前在中成药制剂分析中有广泛的应用前景。

(3)测定结果评价 中成药制剂质量标准的制定,实际上应该是一个动态过程,其质量保证体现从原料药材到成品剂型的全过程。重点应保证指标成分的转换率及主要成分间的比例相对稳定。关于含量限度如果低于 0.01%,应建立第 2 个含量测定方法或浸出物测定。

(4)生物测定 如含量测定确实有难度,也可建立生物测定方法。

3. 关于中成药二类新药——复方中提取的有效部位群

(1)该有效部位群各有效部位均应有明确归属的(包括混合提取过程中产生的成分)鉴别。也可采用能重现指纹色谱图鉴别。

(2)该有效部位群中各有效部位的总含量一般不低于 50%,其中对应于原处方药材中各有效部位的比例应相对稳定。

(3)该有效部位群中主要药味的有效部位原则上应建立单一有效成分的含量测定,根据实测数据制定含量限(幅)度。

4. 关于中成药二类新药——中成药注射剂

其含量测定的要求是:有效部位的含量应不低于总固体量的 70%(静脉用不低于 80%)。也可选择其中某单一成分测定含量,按平均值折算成有效部位量,并将总固体量、有效部位量和某单一成分量均列为质量标准项目;以净药材为组分配制的注射剂,所测定指标成分的总含量应不低于总固体量的 20%(静脉用不低于 25%)。同时应制定上下限。

目前中成药质量控制的手段不足,质量标准明显落后,与国际上的要求有较大的差距,这直接影响了中成药出口。有资料表明,在世界天然药物年贸易额已达 160 亿美元的今天,我国在这个巨大市场中所占的份额仅为 3%,远远低于我们的近邻——日本和韩国,我国中成药在国际市场上的销售额大约是日本中成药的几分之一。其主要原因在于我国中成药能够用数据明确说明成分含量、临床药理、药效及质量标准等方面明显不足,模糊不清的地方太多,“中成药大国却成不了中成药强国”一直是我国医药行业人士的隐痛。在西方医学向现代自然科学和实验科学发展的今天,中医药学仍走着一条经验科学和人文科学相结合的道路,无法与国际接轨。

5. 中成药含量测定存在的问题

(1)含量测定的方法学问题 除了要考察类似分析化学常规要求的方面如线性关系、回收率等之外,中成药测定时关键要注意到对含生粉的样品的提取条件,如溶剂、提取时间及温度、分离纯化条件等的优选,往往还要用到正交试验法。中成药的定量由于越来越多地依靠色谱分析,对样品的初步纯化分离是很必要的,例如溶剂的针对性可以保证被测成分提取完全,按不同要求分别纯化处理(如预柱分离)后再行测定。此外最被强调的是空白对照的阴性对照试验,如色谱分析中的阴阳对照法。回收率测定要科学地采用加样回收测定,这是必不可少的。

(2)化学对照品问题 用于含量测定的化学对照品的品种不足已成为中成药含量测定研究的缺陷,因无化学对照品,许多方法都成为空想而无法进行研究,所以对照品的研究必须加快,至少应同步进行,对于鉴别反应,尚可用对照药材同行 TLC 检查,而多数的含量测

定法特别是色谱法,化学对照品是必需的,这也是含量测定研究的当务之急。

(3)关于中成药制剂的浸出物测定 在文献中规定,确实无法建立含量测定时,可暂时将浸出物测定作为量化控制质量的指标,但应具有针对性,有明确意义。对于某些成药如芳香开窍药、芳香化湿药、含多种挥发油的感冒药等,设立醚溶性浸出物测定有保证疗效的意义,尚能符合中医药理论。而某些成药的水和稀醇浸出物无明显意义,因为可溶或部分可溶在水或稀醇中的成分如辅料等杂物太多,测定其量难以反映内在质量,故浸出物测定不普遍适用。另外有的成药在制定了合理的某些成分的含量测定法后可取消浸出物测定,但是有的却仍有保留的意义,作为量化考察的手段之一,不应取消。

纵观 20 世纪,特别是 1949 年以来,中成药质量标准从无到有,从宏观至微观,尤以近 10 年发展为快,波谱、色谱技术的应用,大大推动了中成药标准化进程,随着科学技术的迅猛发展,检测手段科学性、准确性与灵敏度不断提高,以及仪器设备的普及,将使先进的检测方法更多地应用于法定标准中。中成药的检定研究趋势也将是多学科渗透,从单指标至综合多指标发展,对药物的质量作整体评价,将更好地保证用药安全与有效。

(二)HPLC 法含量测定中的几个具体应用问题

高效液相色谱法(HPLC)是 20 世纪 60 年代末 70 年代初发展起来的一项新技术,是现代科学分离分析的重要手段之一,近些年来它在中成药分析方法研究方面也得到迅速的发展与应用。在这里主要介绍几个具体的应用问题。

一)含量测定的主要技术关键

HPLC 对中成药分析的主要技术关键,在于样品前处理提取方法、纯化条件,以及色谱分析条件的适当选择,否则影响分离效果。

1. 不同剂型中成药样品提取方法

(1)蜜丸 先把蜜丸剪碎,称取一定量,拌入适量硅藻土研匀,干燥,再根据所测定成分选择适当有机溶剂用超声波振荡器提取或用索氏提取器提取。

(2)片剂 研成粉末,准确称取适量,用甲醇或乙醇及其他适当溶剂浸泡一定时间,用超声波振荡器提取或加热回流提取。

(3)口服液 用乙醚或醋酸乙酯提取,或者取一定量的口服液拌入适量硅藻土,混匀,干燥,然后用超声波振荡提取或用索氏提取器提取。

另外,挥发性成分对于不同剂型的中成药,都可用挥发油提取器蒸馏,分离出油,定容适当体积为供试品溶液,可进行成分分析。

不同剂型中成药经过前处理提取后,配成适当溶液,如样品溶液色泽透明,澄清,即可进样分析,从色谱图上看所测成分是否有杂质峰干扰,如有干扰,样品需进一步纯化处理。

2. 样品纯化方法

(1)过大孔树脂小柱(玻璃小柱,内径 1.0~1.5cm,长 15~25cm),可除去糖的干扰。

(2)过聚酰胺小柱(规格同上),可纯化黄酮类成分。

(3)生物碱类,溶液先调成碱性,再用氯仿提取。

(4)过氧化脒和活性炭混合填料小柱(规格同上),可除去样品中少量杂质及色素。

(5)过 PT-系列色谱预处理小柱或用滤膜过滤,均达到样品纯化目的。

3. 色谱条件的选择

(1) 色谱柱 在中成药分析中最先应用,最普遍的是十八烷基键合相 C_{18} 、 C_8 等反相 ODS 柱,极少数采用正相柱(分离同系物或同分异构体化合物)及离子交换色谱柱(分离水溶性离子化合物)。常用色谱柱的规格:内径有 2.6、4.0、4.6 和 5.0mm,柱长有 15、20、25、30cm,色谱填料粒度多数为 5、7、10 μ m(所指分析柱)。

(2) 流动相 因分析时多数是采用反相 ODS 柱,所以选用的流动相范围比较广泛,常用的流动相系统分列如下:

① 甲醇-水或乙腈-水,并根据样品中所测成分分离情况,适当调节甲醇或乙腈的配比。
② 甲醇-磷酸钠盐或钾盐水溶液,乙腈-磷酸钠盐或钾盐水溶液,并适当调节 pH 值。
③ 甲醇-水或乙腈-水流动相中可调成弱酸性,可抑制样品中羧基($-\text{COOH}$)离解,改变峰形拖尾现象。

④ 个别流动相中添加离子对试剂(如四丁基氢氧化铵、乙烷磺酸钠等)。

⑤ 用正相柱分析时所用流动相,基本是以正己烷、氯仿、二氯甲烷为主,再根据样品的极性,添加少量的异丙醇或其他醇类,根据出峰分离情况,改变醇的比例。

(3) 检测波长 检测波长的确定,一般是依据样品被测成分的最大吸收波长来作为分析中的检测波长,如果所用仪器不带可变波长装置时,只能选用 254nm 通用波长,再根据响应值的大小适当改变样品浓度。如果样品中被测成分的最大吸收波长低于 220nm 以下,要求配制流动相的试剂纯度比较高(色谱纯),否则有吸收,基线有噪音,在这种情况下,如样品中所测成分响应值很高、灵敏,可适当提高波长,在(230~250nm)下检测。例如:在测定成药中大蒜素的含量时,大蒜素的最大吸收波长在 206nm,分析时,噪音大,基线不稳,后改为肩位波长 230nm 检测,就得到满意的结果。

二) 杂质干扰检查

由于中成药药味多,成分复杂,相互干扰大,所以采用 HPLC 研究时必须对中成药中的被测成分做干扰检查试验,即按成药处方(除去被测药材成分)中各药味配制成模拟样品,然后再按成药供试品溶液的制备方法及拟定好的测定条件下进样分析,无干扰峰,方可确证所建立的定量方法符合要求。

三) 定量方法

HPLC 测定中成药中某成分含量时,采用的定量方法,最常用的有两种:外标法和内标法。

1. 外标法 可测定中成药中某单一成分的含量,即用已知浓度的被测成分的对照品溶液和样品溶液在同样色谱条件下测定,所得峰面积(A)或峰高(H)对比,计算该成分在中成药中的含量。

采用外标法定量时,要求仪器测试条件恒定,进样量必须准确,否则测定结果误差较大。

2. 内标法 内标法就是在被测的样品中加入一个已知物(内标物),先求出被测成分的对照品及内标物的校正因子,然后测定样品中被测成分的含量。

四) HPLC 在中成药分析的应用概况

HPLC 测定中成药有效成分大体分为如下几大类:生物碱类、苷类、有机酸类及其他类,现将应用情况,常用的有效成分测定条件及制剂列于下表。

一、概述

制剂名词	测定成分	色谱柱	流动相	检测波长 (nm)
速效救心丸 当归滴丸 复方川芎注射液	川芎嗪	YEG-C ₁₈ ODS	CH ₃ OH:H ₂ O:0.1mol/L NaOAc(150:150:50)	292
香连丸 加味左金丸	小檗碱 黄连碱 巴马丁	μ -Bondapak C ₁₈ 300×3.9	0.02mol/L H ₃ PO ₄ :32%CH ₂ CN	346
黄连上清丸	盐酸药根碱 等4种生物碱	Analytical Silica 250×3.9	EtOAc:HCOOH:EtOH (15:3:2)	210
止咳化痰丸	麻黄碱 伪麻黄碱	μ -Bondapak C ₁₈ 300×3.9	0.01mol/L K ₂ HPO ₄ :CH ₃ OH (96:4)	210
清热解毒口服液	芍药苷	Nucleosil C ₁₈ 250×4.0	CH ₃ OH:1%CH ₃ COOH (22:28)	232
归芍六君丸	芍药苷	C ₁₈ ODS	CH ₃ OH:H ₂ O(32:68)	270
黄连解毒汤 滋清饮	栀子苷	C ₁₈ ODS 150×4.0	0.05mol/L Na ₂ HPO ₄ : CH ₃ OH (80:20)	240
海马补肾丸	淫羊藿苷	C ₁₈ ODS	CH ₃ OH:H ₂ O(70:30)	270
感冒安	黄芩苷	C ₁₈ ODS 250×4.6	CH ₃ OH:0.02mol/L KH ₂ PO ₄ (27:73)	276
虎杖冲剂	白黎醇苷	KYWG C ₁₈ 250×5.0	CH ₃ CN:H ₂ O(27:73)	303
复方感冒安	绿原酸	C ₁₈ ODS 250×4.6	CH ₃ OH:0.2%CH ₃ COOH (6:4)	326
当归调经露	阿魏酸	Nova-Pak C ₁₈ 250×3.9	CH ₃ OH:0.5%CH ₃ COOH (25:75)	320
人丹	甘草酸	RP-8 220×2.1	CH ₃ OH:H ₂ O:CH ₃ COOH (60:90:0.4)	254
蛇胆川贝液	胆酸	YWG C ₁₈ 10m 150×5	CH ₃ OH:H ₂ O (80:20)	200
熊去氧胆酸片	熊去氧胆酸	μ -Bondapak C ₁₈ 150×5	CH ₃ OH:0.02mol/L NaH ₂ PO ₄ (70:30)	200
乙肝散	胆红素	YWG C ₁₈ ODS	CH ₃ OH:CH ₃ CN: CH ₃ COOH (70:10:20)	450
杞菊地黄丸	丹皮酚	RP-8 220×4.5	CH ₃ OH:H ₂ O(80:20)	274
黄连上清丸	五种游离蒽醌	YMC-prkA-312 150×3.9	CH ₃ OH:H ₂ O (85:15)	254
雷公藤片	雷公藤甲素	Zorbax - CN 250×4.0	CH ₃ OH:H ₂ O(55:45)	225

(续表)

制剂名词	测定成分	色谱柱	流动相	检测波长(nm)
鼻敏宁	r-五味子素	Beckman C ₁₈ 220×4.5	CH ₃ OH:H ₂ O(88:12)	254
丹参注射液	原儿茶醛丹参素	RP-18 200×4.0	CH ₃ OH:0.5%CH ₃ COOH (10:70)	281

五)乙醇-水反相高效液相色谱法应用探讨

甲醇、乙腈为反相高效液相色谱法常用溶剂,均有毒。乙醇与甲醇的理化性质相似却无毒,但 25℃ 时其黏度是甲醇的 2 倍,限制了它在反相高效液相色谱法中的应用。有学者以部分常见中成药及其成药中有效成分为例,使流动相中乙醇比例在 4.75%~66.5% 进行研究,结果证明,在一般情况下,适当升高柱温可以用乙醇代替乙腈或甲醇作为反相高效液相色谱流动相溶剂,它在反相色谱中溶剂强度较大,可减少有机溶剂用量,而且乙醇无毒,有利于实验环境的保护。其要点如下:

1. 含量测定的准确性 为考察乙醇用作反相高效液相色谱流动相溶剂测定样品的准确性,用甲醇或乙腈作流动相溶剂测定同一样品,将乙醇系统测得含量与之比较(均为 3 次测定平均值),相对偏差均小于 3%,见表 4-1-1。

表 4-1-1 2 种色谱条件测定结果(n=3)的比较

样品	成分	乙醇系统		甲醇系统		相对偏差 (%)
		(g/min)	含量(%)	(g/min)	含量(%)	
黄芩	黄芩苷	14.1	8.58	13.8	8.70	-1.38
参柴颗粒	黄芩苷		2.11		2.06	2.43
葛根	葛根素	13.7	3.18	12.3	3.23	-1.55
松龄血脉康	葛根素		2.47		2.50	-1.20
大黄	大黄素	11.7	0.14	13.5	0.14	0
异功化瘤颗粒	大黄素		0.011		0.011	0
丹参	丹参素	10.7	0.84	9.9	0.85	-1.18
	原儿茶醛	18.5	0.147	17.5	0.147	0
	丹参酮Ⅱ _A	11.5	0.184	11.5	0.186	-1.08
丹参片	丹参酮Ⅱ _A		0.0438		0.0432	1.39
丹参注射液	原儿茶醛		2.40		2.38	0.84
	丹参素		0.227		0.223	1.79
黄连	小檗碱	13.2	6.01	16.0	5.98	0.50
痛宝胶囊	小檗碱		0.148		0.152	-2.63
射干	射干苷	18.2	0.52	17.4	0.51	1.96
口腔舒	射干苷		1.04		1.02	1.96
蛇床子	蛇床素	9.3	2.24	8.5	2.28	-1.75
洁尔阴洗液	蛇床素		0.60		0.60	0
骨碎补	柚皮苷	10.9	1.64	13.2	1.65	-0.61
骨碎补胶囊	柚皮苷		30.91	30.48		1.41

2. 柱温及其对色谱柱的影响 本实验分析中成药及中成药所用乙醇浓度在 4.75% ~ 66.5% 范围内。由于乙醇黏度高,大多需用较高的柱温:40℃ ~ 60℃,以降低获得一定流速所需的柱压。关于柱温对色谱柱寿命的影响,同一根色谱柱,用于较高柱温前用萘测柱效为 11372;于较高柱温连续使用 10 个月后,相同的条件测得柱效为 9535(保护柱使用过程中的重新装填,对色谱总柱效有一定影响)。一般烃类键合相,只要样品允许,50℃ ~ 60℃ 是可行的。

3. 盐酸小檗碱与巴马汀的分离测定 一般文献报道的甲醇-水系统难将两者完全分离,采用乙腈-水系统离子对色谱法可将两者很好分离,且柱效较高。本实验采用乙醇-水系统离子对色谱法,也可将两者完全分离,但柱效较乙腈-水系统低,且不能将黄连碱与巴马汀很好分离。

4. 分离度的影响 乙醇与甲醇有相似的选择性,但乙醇分子中多 1 个-CH₂-,使它们仍有差异。比如,在两系统保留时间接近的条件下,黄芩及制剂中黄芩苷与相邻杂质峰的分离度,乙醇系统明显大于甲醇系统,其机理有待进一步研究。

二、九香气雾剂

九香气雾剂是根据胸痹发生的病因多为胸阳不足,阴乘阳位而致气机不畅、气血瘀阻的机理研制的,主要治疗心血瘀阻等型胸痹。该制剂组以萆薢、赤芍、川芎、香附、青木香、麝香、冰片、苏合香、檀香,诸药合用,共奏芳香开窍、理气活血、温阳通脉之功效。根据以上药物的特性及所含成分,质量标准研究以胡椒碱、芍药苷的含量为指标。

(一)实验材料和仪器、试药

胡椒碱对照品(批号 0775-9702,含量测定用)、芍药苷对照品(中国药品生物制品检定所提供)。原料药材由河南省药材公司购入。

高效液相色谱仪:泵 XING DA PUMPUNIT LP0.5,检测器 PERKIN ELMER 公司 UVVISDETECTORLC-830;色谱工作站:大连江申分离科学技术公司 3.3 版本。所用甲醇为色谱纯,水为重蒸馏水。

(二)胡椒碱含量的测定

1. 色谱条件 C₁₈-ODS 柱(200mm×5mm,大连江申分离技术公司),流动相:甲醇-水(77:23),检测波长:343nm,流速:0.8mL/min。

2. 供试品溶液的制备 精密称取胡椒碱对照品适量,置棕色量瓶中,加无水乙醇制成每 mL 含 0.1mg 的溶液,精密量取该溶液和内标溶液各 2.0mL,置 25mL 棕色量瓶中,加无水乙醇至刻度,摇匀,吸取 10μL 注入液相色谱仪中,记录色谱图。另精密吸取本品 5.0mL,内标液 2.0mL 置 25mL 棕色量瓶中,加无水乙醇至刻度,摇匀,过滤,吸取续滤液 10μL 注入液相色谱仪,按内标法以峰面积计算,经上机考察验证,结果分离度好。

3. 阴性试验 取缺萆薢的阴性对照液、供试品溶液和胡椒碱对照品溶液,注入色谱仪,结果供试品与对照品均在相同的保留时间内出现吸收峰,而阴性对照液在此无吸收峰。