

12.21 mg(相当于丹参素 10.98 mg),置 100 mL 量瓶中,加 0.5%冰醋酸溶液溶解并加至刻度,摇匀。分别精密吸取 4、8、12、16、20 μL 注入高效液相色谱仪,按上述色谱条件测定峰面积。以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,得出回归方程 $Y = 324.447.155.3 X + 109.246.084.8$, $r = 0.999.8$,表明丹参素在 0.439 2 ~ 2.196 0 μg 与峰面积的线性关系良好。

2.7 阴性干扰试验考察:取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液分别在选定的色谱条件下进样分析,结果阴性样品在样品相应位置上无干扰,说明消栓通络软胶囊中其他药味对丹参素的测定无干扰。

2.8 精密度试验:精密吸取供试品溶液,按照上述色谱条件进样 20 μL ,连续进样 5 次,计算得丹参素钠峰面积的 RSD 值为 1.66%。

2.9 稳定性试验:精密吸取供试品溶液,于 0、2、4、6、10 h 按上述色谱条件分别进样 20 μL ,按丹参素钠峰面积计算,结果丹参素钠峰面积积分值的 RSD 值为 0.629%,表明供试品溶液在 10 h 内均稳定。

2.10 重复性试验:取同一批供试品(批号为 20040630),共 5 份,分别制备供试品溶液,按上述色谱条件进样 20 μL 进行测定,结果样品中丹参素的平均质量分数为 1.263 mg/粒, RSD 为 0.760% ($n=5$)。

2.11 回收率试验:取同一批样品(批号为 20040630,含丹参素 1.263 mg/粒)6 份,精密称定,分别精密加入 0.708 0、0.826 0、0.944 0 mg 丹参素钠对照品,制备成供试品溶液,按上述色谱条件测定,记录色谱图并计算回收率,结果平均回收率为 98.30%, RSD 为 1.02% ($n=6$)。

2.12 样品的测定:取 3 批消栓通络软胶囊样品,每批

测定 3 份,制备供试品溶液,按上述色谱条件分别进样 20 μL ,按外标法计算丹参素的质量分数,结果见表 1。

表 1 消栓通络软胶囊中丹参素的测定结果

Table 1 Determination of danshensu in Xiaoshuan

Tongluo Soft Capsula	
批号	丹参素/(mg·粒 ⁻¹)
20040825	1.263
20040827	1.212
20040829	1.284

3 讨论

3.1 供试品溶液制备方法的考察:在预试验中考察提取溶媒(水、甲醇、乙醇)、提取方法(超声法、加热法)以及提取时间(10、20、30 min)的影响;结果选用水为溶媒超声提取 20 min 制备供试品溶液,丹参素的量较高,主峰分离理想。

3.2 色谱柱的选择:选用 Agilent C₁₈ 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm) 和 Kromteck C₁₈ 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm) 两种色谱柱做对比研究,结果 Kromteck C₁₈ 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm) 柱虽也能达到基线分离,但柱效稍低;因此选用 Agilent C₁₈ 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm)。

3.3 流动相的选择:考虑到丹参素的柱效和分离情况,曾选择甲醇-水-0.5%三氯乙酸(8:90:2)为流动相、甲醇-水-乙腈-冰醋酸(8:92:0.5:1)、甲醇-水-二甲基甲酰胺-冰醋酸(93:2:1)](11.7:88.3)、甲醇-0.5%冰醋酸溶液(10:90)为流动相;结果甲醇-0.5%冰醋酸溶液(10:90)为流动相分离效果满意,丹参素峰已达基线分离,峰形对称;缺丹参阴性对照样品无干扰。最终确定甲醇-0.5%冰醋酸溶液(10:90)为流动相。

高效液相色谱法测定生脉分散片中五味子醇甲

金福¹,石森林^{2*},朱雨晴²

(1. 临海市第二人民医院,浙江 临海 317016; 2. 浙江中医药大学药学院,浙江 杭州 310053)

摘要:目的 定量分析生脉分散片中的五味子醇甲。方法 采用高效液相色谱法。Kromasil C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);以甲醇-水(60:40)为流动相;体积流量为 1 mL/min;检测波长为 250 nm;柱温:35 °C;进样量为 20 μL 。结果 五味子醇甲在 0.260 4 ~ 1.302 0 μg 呈现良好的线性关系,平均回收率 99.7%, RSD 为 1.22% ($n=9$);每片中含五味子醇甲为 0.25 ~ 0.34 mg。结论 本法操作简便、准确、专属性好,可作为生脉分散片中五味子的质量控制方法。

* 收稿日期:2008-12-26

作者简介:金福(1962—),男,浙江省临海市人,主管药师,大专,1985年至今在临海市第二人民医院药剂科工作,主要从事中西药物药理研究。Tel:13357692935 E-mail:yjkjf-001@163.com

*通讯作者 石森林

关键词:生脉分散片;五味子醇甲;高效液相色谱

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2009)06-0912-03

生脉片收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》中药成方制剂第十二册,由人参、麦冬、五味子 3 味中药组成,具有益气复脉、养阴生津的功效,用于治疗气阴两亏、心悸气短、脉微自汗等病症。为了改善有效成分的溶出,提高药效,笔者剂型改造为生脉分散片。人参为该制剂处方君药,但若选择其中人参皂苷元控制其质量,往往缺乏专属性,而选择皂苷特征性成分则种类多样;麦冬中主要含有皂苷类成分,紫外吸收较弱,测定相对困难;而五味子为提取物(浸膏)入药,是生脉分散片中的主要药味,其所含五味子醇甲是主要有效成分之一,因此选定五味子醇甲作为质量控制指标^[1]。本实验采用高效液相色谱法对生脉分散片中五味子醇甲进行了定量分析。

1 仪器和试剂

Agilent 1100 液相色谱仪,浙江大学 N2000 色谱工作站;TU-9501 紫外分光光度计;Sartorius BP 211D 电子天平;USC-502 超声波清洗器。

色谱用甲醇为色谱纯(美国 Fisher 化学试剂公司),色谱用水为纯净水过 0.45 μm 微孔滤膜(自制),其余试剂均为分析纯。五味子醇甲对照品(中国药品生物制品检定,批号:857-200102)。生脉分散片和阴性样品(自制,片重 0.45 g)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件及系统适应性试验:Kromasil C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);以甲醇-水(60:40)为流动相;体积流量为 1 mL/min;检测波长为 250 nm;柱温:35 °C;进样量为 20 μL。理论板数按五味子醇甲峰计算应不低于 3 000。

2.2 对照品溶液的制备:精密称取五味子醇甲对照品适量,加甲醇溶解制成 30 μg/mL 溶液,即得。

2.3 供试品溶液的制备:取生脉分散片样品 10 片,研细,称取约 1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25 mL,称定质量,超声处理 30 min,取出放冷,称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,静置,取上清液微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液,即得。

2.4 阴性对照溶液的制备:取缺五味子的生脉分散片阴性样品,研细,取约 1.0 g,同供试品溶液的制备项下方法操作,即得。

2.5 阴性干扰试验:取五味子醇甲对照品溶液、生脉分散片供试品溶液和阴性对照溶液各 20 μL 进

样,依法测定。结果表明本方中的人参、麦冬不含五味子醇甲成分,阴性样品对样品测定无干扰。

2.6 标准曲线的制备:精密称取五味子醇甲对照品适量,加甲醇溶解制成 65.1 μg/mL 溶液。分别精密吸取 4、8、12、16、20 μL 注入高效液相色谱仪,测定峰面积。以峰面积对五味子醇甲进样质量进行回归,其回归方程为 $Y = 9.06 \times 10^5 X + 20\ 140$, $r = 0.999\ 3$ 。结果表明,五味子醇甲在 0.260 4 ~ 1.302 0 μg 呈现良好的线性关系。

2.7 精密度试验:取批号 20031201 样品,制备供试品溶液,重复进样测定 5 次,结果五味子醇甲峰面积的 RSD 为 0.65%。

2.8 稳定性试验:取批号 20031201 样品,制备供试品溶液,在 0、2、4、8、12 h 依法测定,结果五味子醇甲峰面积的 RSD 为 1.42%,表明供试品溶液在制样 12 h 内基本稳定。

2.9 重现性试验:取批号 20031201 生脉分散片样品,进行 5 次平行测定,结果五味子醇甲平均质量分数为 0.74 mg/g, RSD 为 1.0%。

2.10 回收率试验:取批号 20031201 样品 0.5 g,精密称定,平行 9 份,分别精密加入 38.5 μg/mL 五味子醇甲对照品溶液 8、10、12 mL,各 3 份,制备供试品溶液,测定,计算,结果平均回收率为 99.7%, RSD 为 1.22%。

2.11 样品测定:10 批样品,每批平行取样 2 份,制备供试品溶液。取五味子醇甲对照品溶液和生脉分散片供试品溶液,进样测定,计算,结果见表 1。每片含五味子以五味子醇甲计为 0.25 ~ 0.34 mg,考虑到本品随原料量有一定波动及大生产实际情况,暂定本品以五味子醇甲计不得少于 0.22 mg/片为合格品。

表 1 生脉分散片中五味子醇甲的测定结果

Table 1 Determination of schisandrin in Shengmai Disperse Tablets

批号	五味子醇甲/ (mg·片 ⁻¹)	批号	五味子醇甲/ (mg·片 ⁻¹)
20031201	0.34	20040903	0.28
20031202	0.33	20040904	0.27
20031203	0.34	20050701	0.26
20040901	0.34	20050702	0.25
20040902	0.33	20050703	0.27

3 讨论

实验选用 Kromasil C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm,

5 μm)和 Aichrom C_{18} 柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm)做相关考察,均可基本达到基线分离。综合考虑分析时间、峰形对称度及美观度等因素,用 Kromasil C_{18} 柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm)为本实验的分析用色谱柱。

取五味子醇甲对照品用流动相甲醇-水(60:40)溶解,对五味子醇甲进行紫外扫描(190~400 nm),结果五味子醇甲在 251 nm 波长处有最大吸收,因此确定测定波长为 250 nm。

五味子醇甲的提取溶液一般有甲醇、乙醇等。本实验分别采用甲醇、乙醇、50%甲醇作为提取溶剂,以其中五味子醇甲的质量分数作为衡量指标,结果3种提取溶剂得出的五味子醇甲的质量分数分别是 0.72、0.71、0.69 mg/g,所以当提取溶剂为甲醇

时,五味子醇甲的提取效率最高,本实验予以选用。

实验对样品提取方法进行了筛选考察,对超声处理、回流提取两种方法进行了对比,以五味子醇甲的质量分数作为衡量指标,结果五味子醇甲分别为 0.72、0.71 mg/g,没有明显区别,而且超声方法相对简单,故选定。分别超声处理 15、30、45 min,结果五味子醇甲的质量分数分别为 0.67、0.72、0.72 mg/g,由上可见,超声处理 30 min 可基本将样品中五味子醇甲提取完全,而且时间相对较短,故选择超声处理时间为 30 min。

参考文献:

- [1] 王怡君,郭兰建,周文生,等. HPLC法测定中风康丸中五味子醇甲的含量[J]. 中草药,1990,30(7):511.

HPLC法测定黄连明目丸中盐酸小檗碱

苏亚¹,卢敏^{2*}

(1. 台州市黄岩区红十字医院,浙江台州 318020; 2. 浙江永宁药业股份有限公司,浙江台州 318020)

黄连明目丸由黄连、决明子、五味子等组成,具有滋肾明目、平肝熄风功效,用于肝肾亏虚,视力模糊,畏光流泪等。黄连为该方君药,盐酸小檗碱为其主要活性成分,具清热解毒作用。本实验拟测定制剂中盐酸小檗碱以控制产品质量。

1 仪器与试剂

Agilent1100液相色谱仪,Agilent 1100 DAD 检测器;岛津 UV-260 紫外分光光度计。

盐酸小檗碱(批号 110713-200805)由中国药品生物制品检定所提供。乙腈为色谱纯,其余为分析纯。黄连明目丸样品由实验室自制(批号:080801、080802、080803)。

2 方法及结果

2.1 色谱条件^[1]:色谱柱 Discovery C-18(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm);乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钾(10%氢氧化钾试液调节 pH 5.0)(30:70)为流动相;检测波长为 350 nm;体积流量:1 mL/min;进样量为 5 μL 。

2.2 对照品溶液的制备:精密称取以五氧化二磷为干燥剂减压干燥 24 h 的盐酸小檗碱对照品适量,加甲醇制成 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的溶液,即得。

2.3 供试品溶液的制备:取黄连明目丸适量研细,取约 0.5 g,精密称定,置 25 mL 量瓶中,加入盐酸-甲醇(1:100)适量,浸渍 30 min 后超声处理 30 min,放冷,加溶剂至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,即得。

2.4 空白试验:取缺黄连样品按供试品制备法制备,并取适量注入液相色谱仪,结果显示在盐酸小檗碱相同保留时间处无吸收峰。见图 1。

2.5 线性关系考察:精密量取 21.32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 盐酸小檗碱对照品溶液 1、2、4、6、8、10、12 μL 注入液相色谱仪,测定峰面积。以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标,得回归方程 $Y = 0.287 X + 0.929$, $r = 0.9995$ 。显示盐酸小檗碱进样量在 21.32~255.84 ng 有良好的线性关系。

2.6 精密度试验:取盐酸小檗碱对照品溶液,按以上色谱条件重复进样 6 次,测定峰面积的 RSD 为 1.7%。

2.7 稳定性试验:取黄连明目丸供试品溶液,按以上色谱条件,分别在 0、8、12、24、33 h 进样,测定盐酸小檗碱峰面积,结果 RSD 为 1.1% ($n = 5$),显示供试品溶液至少在 33 h 内稳定。

2.8 重现性试验:取批号 080801 黄连明目丸样品

(下转第 967 页)

* 收稿日期:2009-02-20

作者简介:苏亚(1967—),女,浙江黄岩人,主管中药师,毕业于北京中医药大学。Tel: 13575809997 E-mail: 420068841@qq.com