

图1 对照品(A)、肾炎康复片(B)及阴性样品(C)的HPLC色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of reference substances (A), Shenyang Kangfu Tablet (B), and negative sample (C)

等流动相^[1],经比较在相同流动相与不同品牌的色谱柱(Dima、三维、Phenomenex等色谱柱)后,采用乙腈-甲醇-水(50:25:25)为流动相,使用上述色谱柱分离效果均可,丹参酮I、隐丹参酮、丹参酮II_A色谱峰与相邻峰分离度均大于1.5。

参考文献:

[1] 王臣芳,罗海霞,周宇胜,等.精制冠心病片中丹参脂溶性成分的HPLC含量测定[J].中国现代药物应用,2008,2(6):21.

HPLC-ELSD 法测定血府逐瘀胶囊中苦杏仁苷、芍药苷和柚皮苷

高颖,高文远*,董玄

(天津大学药物科学与技术学院,天津 300072)

摘要:目的 建立血府逐瘀胶囊中苦杏仁苷、芍药苷、柚皮苷的HPLC-ELSD测定方法。方法 采用HPLC法,色谱柱为HiQ-C₁₈柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:乙腈-0.8%醋酸水溶液,梯度洗脱;体积流量为0.8 mL/min;柱温30℃;ELSD漂移管温度为110℃,载气(空气)体积流量为2.5 L/min,进样量:20 μL。结果 3个成分均能达到基线分离,平均回收率分别为苦杏仁苷97.47%、RSD为2.1%(n=6);芍药苷99.19%、RSD为1.9%(n=6);柚皮苷98.38%、RSD为1.3%(n=6)。结论 本方法简便、快速、准确,可作为血府逐瘀胶囊的质量控制方法。

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2009)11-1756-03

血府逐瘀胶囊来源于清代王清任的《医林改错》,由桃仁、当归、枳壳、川芎、柴胡、红花、牛膝、赤芍、地黄、桔梗、甘草11味药组成,具有活血祛瘀,行气止痛之功效,主要用于瘀血内阻,胸痛或头痛,内热烦闷,失眠多梦,心悸怔忡,急躁易怒,冠心病心绞痛、血管及外伤性头痛等症^[1,2]。目前对其质量控制为《国家药品监督管理局标准》WS3-B-3049-98血府逐瘀胶囊质量标准,采用HPLC法测定芍药苷,规定每粒含芍药苷不得低于0.24 mg。本实验采用HPLC-ELSD法一次进样同时检测血府逐瘀胶囊中苦杏仁苷、芍药苷、柚皮苷3个成分,方法简便、可靠、重现性好,提高和完善了血府逐瘀胶囊的质量标准。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国Agilent公司);Alltech 2000型ELSD检测器(美国奥泰公

司);XWK-3A空气泵(天津市华生分析仪器厂);Sartorius CP255D(北京赛多利斯天平有限公司);KQ3200DB型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

乙腈(康科德,色谱醇),水为去离子水,甲醇(康科德,分析纯),醋酸(分析纯)。苦杏仁苷(批号110820-200403)、芍药苷(批号110736-200630)、柚皮苷(批号110722-200610)对照品由中国药品生物制品检定所提供;血府逐瘀胶囊(每粒装0.4 g)由天津宏仁堂药业有限公司提供。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验:色谱柱为HiQ-C₁₈柱(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:A(乙腈)-B(0.8%醋酸水溶液),梯度洗脱:0~15 min(B:90%→85%),15~25 min(B:85%→65%),25~30

收稿日期:2008-12-16

基金项目:天津市科技创新专项资金项目(06FZZDSH00404)

作者简介:高颖(1977—),女,吉林人,讲师,在读博士生,主要从事中药质量控制研究。E-mail:gying77@163.com

*通讯作者 高文远 Tel/Fax:(022)87401895 E-mail:pharmgao@tju.edu.cn

min(B: 65% → 60%), 30 ~ 35 min (B: 60% → 60%); 体积流量为 0.8 mL/min; 柱温 30 ℃; ELSD 漂移管温度为 110 ℃, 载气(空气)体积流量为 2.5 L/min, 进样量: 20 μL。

2.2 供试品溶液的制备: 取装量差异项下的血府逐瘀胶囊内容物, 混匀, 研细, 取 0.5 g, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 精密加入 50% 甲醇 20 mL, 超声处理 30 min, 取出, 放冷, 50% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.3 对照品溶液的制备: 精密称取苦杏仁苷对照品 7.24 mg、芍药苷对照品 17.75 mg、柚皮苷对照品

16.25 mg, 置于 25 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 阴性供试品溶液的制备: 苦杏仁苷、芍药苷、柚皮苷分别来源于桃仁、赤芍、枳壳 3 味药材, 按血府逐瘀胶囊的生产工艺制备缺桃仁、赤芍、枳壳的阴性制剂, 并按照供试品溶液的制备方法制备各阴性供试品溶液。

2.5 方法学考察

2.5.1 专属性试验: 精密吸取血府逐瘀胶囊供试品溶液、混合对照品溶液和阴性供试品进样测定, 得 HPLC 图谱, 见图 1。结果阴性制剂对所测组分无干扰。

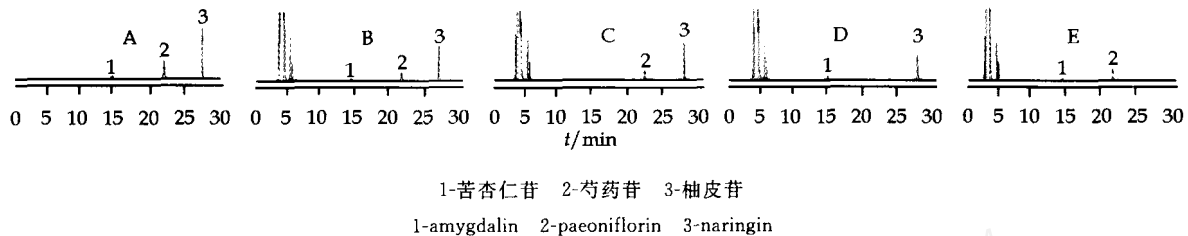


图 1 混合对照品(A)、血府逐瘀胶囊(B)、缺桃仁的阴性制剂(C)、缺赤芍的阴性制剂(D)和缺枳壳的阴性制剂(E)的 HPLC-ELSD 色谱图

Fig. 1 HPLC-ELSD Chromatograms of reference substances (A), Xuefuzhuyu Capsule (B), negative sample without *Semen Persicae* (C), negative sample without *Radix Paeoniae Rubra* (D), and negative sample without *Fructus Aurantii* (E)

2.5.2 线性关系考察: 精密吸取含苦杏仁苷、芍药苷、柚皮苷混合对照品溶液 0.5、1、1.5、2、2.5、3 mL 于 10 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 滤过。分别精密吸取 20 μL 注入液相色谱仪, 测定峰面积值。以进样质量的对数为横坐标, 峰面积对数为纵坐标, 绘制标准曲线, 得苦杏仁苷回归方程 $Y=1.49 X+4.59, r=0.999 4$; 芍药苷回归方程 $Y=1.66 X+4.52, r=0.999 5$; 柚皮苷回归方程 $Y=1.71 X+5.28, r=0.999 7$, 结果表明苦杏仁苷、芍药苷、柚皮苷分别在 0.29 ~ 1.74 μg, 0.71 ~ 4.26 μg, 0.65 ~ 3.90 μg 呈良好的线性关系。

2.5.3 精密度试验: 精密吸取混合对照品溶液 20 μL 进样, 测定各成分的峰面积, 重复 6 次, 分别计算其 RSD, 结果苦杏仁苷、芍药苷、柚皮苷的 RSD 分别为 1.45%、1.44%、1.41%。

2.5.4 重现性试验: 取批号为 G03056 的样品 6 份, 分别制备供试品溶液, 各取 20 μL 进样, 测定峰面积, 计算各成分的质量分数和 RSD, 结果苦杏仁苷: 2.85 mg/g、1.92%; 芍药苷: 5.74 mg/g、1.72%; 7.02 mg/g、1.58%。

2.5.5 稳定性试验: 取批号为 G03056 的样品, 制备供试品溶液, 分别于 0、2、4、6、8、10、12 h 各取 20 μL 进样测定各成分的峰面积, 分别计算 RSD, 结果

苦杏仁苷、芍药苷、柚皮苷 RSD 分别为 1.8%、2.0%、1.7%, 表明供试品溶液在室温条件下 12 h 内稳定。

2.5.6 加样回收率试验: 取批号为 G03056 的血府逐瘀胶囊内容物, 混匀, 研细, 取 0.25 g, 精密称定, 平行 6 份, 置 25 mL 量瓶中, 加入苦杏仁苷 0.52 mg、芍药苷 1.64 mg、柚皮苷 1.56 mg 对照品, 制备供试品溶液, 取 20 μL 进样, 测定, 计算回收率。结果各成分的平均回收率和 RSD 分别为: 苦杏仁苷 97.47%、2.1%; 芍药苷 99.19%、1.9%; 柚皮苷 98.38%、1.3%。

2.5.7 样品的测定: 取 6 个批号的样品, 每批 3 份, 分别制备供试品溶液, 按上述方法测定, 以回归方程计算各成分的质量分数, 结果见表 1。

3 讨论

目前血府逐瘀胶囊质量控制方法, 按照部颁标准仅测定单一成分芍药苷的量; 另外, 对于血府逐瘀其他剂型如丸剂、片剂、软胶囊等的质量控制^[3~6], 也仅采用单指标成分进行测定, 这对于由 11 味药组成的复方来说, 不能全面地控制其质量。本实验采用 HPLC-ELSD 法同时检测血府逐瘀胶囊中苦杏仁苷、芍药苷、柚皮苷, 方法简便、可靠、重现性好, 提高和完善了血府逐瘀胶囊的质量标准。

表 1 血府逐瘀胶囊中有效成分的测定结果($n=3$)Table 1 Determination of components
in Xuefuzhuyu Capsule ($n=3$)

批号	苦杏仁苷/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	芍药苷/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	柚皮苷/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)
G03056	2.848	5.740	7.020
H03007	2.386	6.072	7.080
H03022	3.102	5.072	6.044
G03025	3.219	5.398	7.169
H03021	2.849	5.007	6.268
H03003	2.346	5.902	7.078

血府逐瘀胶囊是由 11 味药材组成的复方制剂,所含成分复杂,本研究曾选用不同的溶剂系统,如甲醇-水、乙腈-水、甲醇-1%醋酸水溶液、乙腈-1%醋酸水溶液作为流动相进行试验,首先进行的等度洗脱,但所需检测的几个峰分离不理想,故改用梯度洗脱。经多次试验,反复调整洗脱程序,最终以本研究中的梯度洗脱程序来分离样品,所检测的 3 个峰均能达到基线分离。

为了尽可能全面反映药材的化学信息,实验对供试品溶液的制备方法进行考察。选择甲醇、70% 甲醇、50% 甲醇、30% 甲醇、水进行提取,结果 50% 甲醇提取得样品信息量较多,峰面积较大;对于超声时间进行考察,分别考察 10、20、30、45、60 min 超声提取,结果 30 min 即能提取完全。

对检测器进行了选择,ELSD 作为一种通用型

质量检测器,可用于检测不存在紫外吸收或仅在紫外末端具有吸收的样品,ELSD 可以很好地支持梯度洗脱,消除流动相配比变化对基线产生的影响,尤其适合于用梯度洗脱在一次进样中分析组分复杂的中药成分。本实验中比较了 UV 检测器与 ELSD 检测器的色谱图,发现采用 ELSD 检测器所得图谱基线平稳,3 种成分均达到基线分离,且阴性样品无干扰,故选择 ELSD 检测器。对 ELSD 参数的进行优化:比较了 90、95、100、105、110 $^{\circ}\text{C}$ 漂移管温度及 2.0、2.5、3.0 L/min 气体体积流量,发现漂移管温度为 110 $^{\circ}\text{C}$,气流速度为 2.5 L/min 时,ELSD 响应较好,且基线噪音相对较小。最终确定 ELSD 最佳检测条件为气体体积流量为 2.5 L/min,漂移管温度为 110 $^{\circ}\text{C}$ 。

参考文献:

- [1] 张学文.《医林改错》一书的学习与活血化瘀方药的运用[J]. 天津中医药,2006,23(1):1-6.
- [2] 王桂英,王 齐,谢希钧,等. 血府逐瘀胶囊方解及功效[J]. 天津药学,1997,9(1):37.
- [3] 周 娟,王 颖,伍丕娥,等. 血府逐瘀软胶囊中药材的鉴别及芍药苷的含量测定[J]. 华西药学杂志,2006,21(5):475-477.
- [4] 党 林,张宏安,蒙跃龙. HPLC 法测定血府逐瘀片中芍药苷的含量[J]. 现代中医药,2006,26(3):60.
- [5] 马连英,于秀华,李长惠. 高效液相色谱法测定血府逐瘀口服液阿魏酸含量[J]. 中国药业,2006,15(16):28.
- [6] 颜耀东,金 瑛,周志刚,等. 薄层扫描法测定血府逐瘀丸中齐墩果酸的含量[J]. 中国医院药学杂志,2001,21(12):719-721.

紫外分光光度法测定绞股蓝总苷口腔崩解片中总皂苷

鲁 敏,李樱红,龚 青

(浙江省食品药品检验所,浙江 杭州 310004)

摘 要:目的 建立绞股蓝总苷口腔崩解片中有效成分的测定方法。方法 以人参皂苷 Rb_1 为对照,采用紫外分光光度法测定绞股蓝总苷中的总皂苷。结果 该方法的线性范围 0.061 62~0.308 1 mg;平均回收率为 97.61%,RSD 为 1.4%($n=9$)。结论 方法可行、重复性好,能有效控制绞股蓝总苷口腔崩解片的质量。

关键词:绞股蓝总苷口腔崩解片;人参皂苷 Rb_1 ;紫外分光光度

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2009)11-1758-02

绞股蓝总苷口腔崩解片为绞股蓝总苷片的剂改品种,主要原料为绞股蓝总苷,原标准收载在《国家药品标准》新药转正第 4 册,测定项下以绞股蓝皂苷 A 为对照。但是目前市场上无绞股蓝皂苷 A 对照品商品。因此本实验建立了以人参皂苷 Rb_1 为对

照,采用紫外分光光度法测定绞股蓝总苷口腔崩解片中总皂苷的方法。

1 仪器与试剂

TU—1901 紫外分光光度仪。人参皂苷 Rb_1 (中国药品生物制品检定所,批号 110704-200318)。