

HPLC 测定妇科止血灵片中川续断皂苷VI的含量

贾树娟¹, 黄雪莹²

(1. 辽宁中医药大学附属二院, 辽宁沈阳 110034; 2. 沈阳百丰医药有限公司, 辽宁沈阳 110014)

[摘要] 目的: 建立高效液相色谱法测定妇科止血灵片中川续断皂苷VI含量的方法。方法: 采用 Diamonsil-C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm) 色谱柱; 流动相: 乙腈-0.05%磷酸(28:72); 检测波长: 212 nm; 流速: 1.0 ml/min。结果: 川续断皂苷VI在 0.001 2~0.011 0 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系($r=0.999 2$)。平均回收率为 99.58%($RSD=0.94\%$)。结论: 本方法简便、准确、重现性好, 可用于妇科止血灵片中川续断皂苷VI的质量控制。

[关键词] 高效液相色谱法; 续断皂苷VI; 妇科止血灵片; 含量测定

[中图分类号] R927.2

[文献标识码] B

[文章编号] 1673-7210(2010)04(a)-080-02

Content determination of Dipsacus saponin VI in Fuke Zhixueling Tablets by HPLC

JIA Shujuan¹, HUANG Xueying²

(1. The Second Affiliated Hospital of Liaoning Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110034, China; 2. Baifeng Pharmaceutical Co. Ltd. in Shenyang, Shenyang 110014, China)

[Abstract] Objective: To establish a method for the content determination of dipsacus saponin VI in Fuke Zhixueling Tablets by HPLC. **Methods:** The Diamonsil-C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm) column was used. The mobile phases consisted of acetonitrile and 0.05%-phosphoric acid (28:72), the flow rate was 1.0 ml/min and the detection wavelength was at 212 nm. **Results:** The linear ranges of dipsacus saponin VI was at 0.001 2~0.011 0 μg ($r=0.999 2$), the average recovery was 99.58% with a RSD of 0.94%. **Conclusion:** The method is fast, reliable, accurate and can be used in the quality control of dipsacus saponin VI in Fuke Zhixueling Tablets.

[Key words] HPLC; Dipsacus saponin VI; Fuke Zhixueling Tablets; Content determination

妇科止血灵片是由熟地黄、山药、地榆、续断等 11 味中药组成的中药复方制剂。具有补肾敛阴, 固冲止血之功效, 临床用于妇科功能性止血。该制剂原收载于部颁标准[WS2-B-0936-91]中, 在标准中并未制订含量测定指标与测定方法, 川续断皂苷VI是药品中续断的有效成分之一, 本文参照《中国药典》2005 年版一部川续断药材项下的含量测定方法, 确定用高效液相色谱法测定样品中续断皂苷VI的含量, 由于本品成分较多, 通过优化, 本文改进了色谱条件, 经方法学考察, 重现性、精密度、回收率、稳定性试验结果均良好, 可以作为本产品的含量测定方法。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

岛津-10ATvP, 浙江大学 N2000 色谱工作站; 色谱柱填充剂

为十八烷基硅烷键合硅胶[Diamonsil-C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm)]。1.2 试剂

川续断皂苷VI对照品(批号: 103524-200809, 中国药品生物制品检定所); 乙腈为色谱纯; 其他试剂均为分析纯; 水为双重蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil-C₁₈(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.05%磷酸(28:72); 检测波长: 212 nm; 流速: 1.0 ml/min。柱温: 30℃; 进样量: 20 μl; 理论塔板数按川续断皂苷VI计不低于 3 000。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取川续断皂苷VI对照品 15 mg, 置于 10 ml 量瓶

3.3 相关土壤中重金属含量对中药材的影响^①

根据表 3 中山药不同产地的土壤中重金属含量与表 2 中山药含量的比较, 可知土壤中的重金属偏高可能在药材中残留较大, 其影响程度究竟有多大, 有待进一步摸索。

上述实验结果表明, 3 种药材中虽均有重金属的残留, 但均未超过《药物植物及制剂进口绿色行业标准》规定的重金属限量指标: $Cu \leq 20.0$ mg/kg, $Pb \leq 5.0$ mg/kg, $As \leq 2.0$ mg/kg, $Hg \leq 0.2$ mg/kg, $Cd \leq 0.3$ mg/kg, 中药产品中的重金属元素超标问题是制约我国中药产品走向世界的一个重要因素^②, 故对药材标准中增加有害金属含量的监控是保证药品安全、有效的前提。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [2] 于连贵, 李雪花, 高山, 等. 平贝母等 3 种中药材铅、镉、汞含量的研究[J]. 吉林农业大学学报, 2001, 23(2): 53-56.
- [3] 陈晓辉, 郭金华, 张晖芬. 六味药材中重金属含量的测定[J]. 光谱实验室, 2004, 21(5): 54-57.
- [4] 范文成, 董建红, 李奉勤, 等. 用氢化物发生器测定全蝎中汞的含量[J]. 现代中西医结合杂志, 2006, 15(15): 124-125.
- [5] 李永纪, 石墨炉原子吸收光谱法测定尿中铅[J]. 微量元素与健康研究, 2008, 25(5): 68-69.
- [6] 锦伟, 董华军. 中药重金属残留研究进展[J]. 中华医药杂志, 2005, 5(8): 112.

(收稿日期: 2009-10-26)

中,加甲醇溶液溶解并稀释至刻度,摇匀,制成每毫升含川续断皂苷VI 1.5 mg的对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备

取本品50片,研细,取约10g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇溶液25ml,密塞,称定重量,超声处理(功率100W,频率40kHz)30min,放冷,再称定重量,用甲醇溶液补足减失的重量,摇匀,滤过。精密量取续滤液5ml,置10ml量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

2.4 阴性对照品溶液

按处方量称取除川续断的药材,同制备工艺制成阴性样品,再按“2.3”项下方法制备溶液,摇匀,滤过,作为阴性对照溶液。

2.5 系统适用性试验

分别取川续断皂苷VI对照品溶液和供试品溶液,按上述色谱条件进行试验,考察系统适用性,见色谱图1。结果表明,阴性液无干扰。

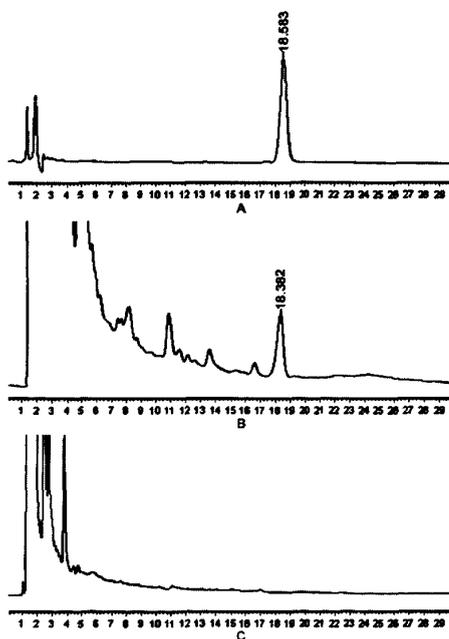


图1 HPLC色谱图

(A.对照品;B.供试品;C.阴性对照)

Fig.1 HPLC chromatography

(A.Reference substance; B.Sample; C.Negative control)

2.6 线性关系考察

分别精密量取“2.2”项下川续断皂苷VI对照品溶液0.2、0.6、1.0、1.4、1.8ml,分别置于5ml量瓶中,加流动相至刻度,摇匀,即得。分别精密吸取20 μ l,注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定色谱峰面积,以对照品进样量(μ g)为横坐标,峰面积为纵坐标,计算回归方程,结果表明川续断皂苷VI在0.001 2~0.011 0 μ g范围内与峰面积呈良好的线性关系($r=0.9992$)。回归方程为 $Y=213\ 578X-31\ 413$ ($r=0.9992$)。见图2。

2.7 精密度试验

精密吸取“2.3”项下供试品溶液20 μ l,分别于0、2、4、6、8h进样,记录色谱图。 $RSD=0.48\%$;结果表明该溶液在8h

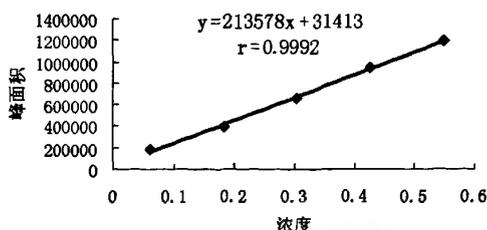


图2 线性关系曲线

Fig.2 Curve line of linear relation

内基本稳定。

2.8 重复性试验

取同一样品,分别制备6份供试品溶液,精密吸取20 μ l,注入液相色谱仪,测定并计算含量结果。 $RSD=0.95\%$;结果表明本法重复性良好。

2.9 回收率试验

取已知准确含量(0.407 mg/粒)的妇科止血灵片样品6份,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇溶液25ml,密塞,称定重量,超声处理(功率100W,频率40kHz)30min,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过。精密量取续滤液5ml,置10ml量瓶中,分别加入川续断皂苷VI对照品溶液(0.30 mg/ml)1ml,加流动相稀释至刻度,摇匀,即得。各精密量取20 μ l,注入液相色谱仪,平均回收率为99.58%, $RSD=0.94\%$;结果表明本法回收率良好,符合测定要求。

2.10 样品测定

取妇科止血灵片样品3份,按“2.3”项下方法制备样品溶液,各精密吸取20 μ l,注入液相色谱仪,测定,即得。计算得续断皂苷VI含量分别为0.407 mg/片,0.406 mg/片,0.408 mg/片。

3 讨论

3.1 提取溶剂的选择

以不同浓度的乙醇、甲醇为溶剂,采用超声的提取方法,测定同批样品,结果采用甲醇为溶剂,提取较完全。

3.2 提取方法及时间的选择

以甲醇为溶剂,分别超声10、20、30、40min,测定同批样品,结果采用超声提取30min为宜,提取较完全。

本研究制订的调经活血片中川续断皂苷VI的含量测定方法,简便易行、重现性好,为妇科止血灵质量标准的提高提供了可靠的依据,具有一定的参考价值。

【参考文献】

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[S].一部.北京:化学工业出版社,2005.
- [2] 马新飞.HPLC法测定不同续断炮制品中川续断皂苷VI[J].中草药,2007,38(5):707-708.
- [3] 董文桑.HPLC法测定舒筋活络酒中川续断皂苷VI含量[J].中国药师,2008,11(3):284-286.
- [4] 谭洪根.高效液相色谱法测定续断药材中川续断皂苷VI的含量[J].中国中药杂志,2006,31(9):726-727.
- [5] 刘建巍,王东,代英辉,等.HPLC法同时测定FT-CS胶囊中4种有效成分的含量[J].沈阳药科大学学报,2009,26(2):216-220.
- [6] 汪承松,袁俊军,孙仲豪.高效液相色谱法测定诺甲栓中诺氟沙星和甲硝唑的含量[J].中国医院药学杂志,2008,28(13):350-353.

(收稿日期:2009-11-04)