

高效液相色谱法测定辛芍注射液中芍药苷含量*

马琳,李勇军,何迅,兰燕宇,王爱民,王永林

(贵阳医学院,贵州 贵阳 550004)

摘要:目的 建立辛芍注射液的含量测定方法。方法 采用 Diamonsil C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),以甲醇-0.1% 甲酸溶液(40:60)为流动相,流速 1.0 mL/min,检测波长 230 nm,柱温 40 °C。结果 芍药苷质量浓度的线性范围为 49~173 μg/mL, $r=0.9999$,平均回收率为 98.44%, $RSD=2.0%$ ($n=6$)。结论 所用方法简单、准确、重现性好,适用于辛芍注射液的质量控制。

关键词:辛芍注射液;赤芍;芍药苷;高效液相色谱法

中图分类号 R927.2;R972 文献标识码 A 文章编号 1006-4931(2008)11-0022-02

Determination of Paeoniflorin in Xinshao Injection by HPLC

Ma Lin, Li Yongjun, He Xun, Lan Yanyu, Wang Aimin, Wang Yonglin

(Guiyang Medical College, Guiyang, Guizhou, China 550004)

Abstract: Objective To establish a method for determining paeoniflorin in Xinshao Injection. Methods Diamonsil C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used with mixture of methanol-0.1% formic acid (40:60) as the mobile phase and the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was 230 nm and the temperature of column was 40 °C. Results The linear range of paeoniflorin was 49-173 μg/mL ($r=0.9999$). The average recovery rate was 98.44% and RSD was 2.0% ($n=6$). Conclusion The method is simple, accurate, reproducible and suitable to be used in the quality control of Xinshao Injection.

Key words: Xinshao Injection; Radix Paeoniae Rubra; paeoniflorin; HPLC

辛芍注射液具有活血化瘀、通经活络的功效,临床上用于治疗中风瘀血及半身不遂等。其主要原料之一赤芍所含芍药苷为主要活性成分^[1-2],为确保制剂的质量和疗效,笔者参考相关文献^[3-5],建立了测定赤芍含量的高效液相色谱(HPLC)法。

1 仪器与试剂

岛津 HPLC 系统;TCQ-250 型超声波清洗器(北京医疗设备二厂);芍药苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号为 110736-200220,供含量测定用);辛芍注射液(贵州省中药民族药研究开发中心,批号为 20051010,20051017,20051019);乙腈、甲醇(色谱纯)、水(重蒸馏水),其余试剂(分析纯)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Diamonsil C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),保护柱为 Security Guard C₁₈ 柱(3 mm × 4 mm);流动相:甲醇-0.1% 甲酸溶液(40:60);流速:1 mL/min;检测波长:230 nm;柱温:40 °C。在此条件下,芍药苷与其他组分峰均能达到基线分离,理论塔板数按芍药苷峰计不低于 4000,阴性对照品溶液无干扰(图 1)。

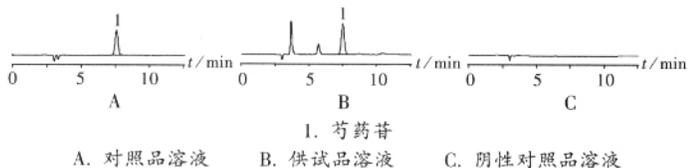


图 1 高效液相色谱图

2.2 溶液制备

精密称取芍药苷对照品 12.35 mg,置 25 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得对照品溶液(0.4940 mg/mL);精密吸取本品 5 mL,置 50 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,再精密吸取该液 5 mL,置 50 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,用 0.45 μm 滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液;取阴性样品同法制备阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察

线性关系考察:精密量取芍药苷对照品的甲醇溶液 1,1.5,2,2.5,3,5 mL,分别加甲醇稀释至 10 mL,精密吸取上述溶液各 10 μL,

注入液相色谱仪,记录峰面积,以对照品进样质量浓度(X)为横坐标、峰面积为纵坐标(Y)绘制标准曲线,得回归方程 $Y=1.119 \times 10^7 X - 1.245 \times 10^4$, $r=0.9999$ ($n=5$)。结果表明对照品溶液进样质量浓度在 49~173 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好。

重现性试验:取同一批样品,分别精密吸取 3,5,7 mL,制备供试品溶液,分别测定。结果平均含量为 9.492 mg/mL, RSD 为 0.77% ($n=9$)。

中间精密度试验:在不同日期由不同分析人员对同一样品进行测定。结果平均含量为 9.41 mg/mL, RSD 为 1.4% ($n=6$)。

稳定性试验:精密吸取同一供试品溶液 10 μL,分别于配制后 0,1,2,4,8 h 时测定。结果供试品溶液在 8 h 内稳定,其峰面积值的 RSD 为 1.6% ($n=5$)。

加样回收试验:精密吸取已测定芍药苷含量(9.492 mg/mL)的样品,分别精密加入芍药苷对照品适量,按供试品溶液制备方法制备供试液,进样测定。结果见表 1。

表 1 芍药苷加样回收试验结果($n=6$)

样品含量(μg/mL)	加入量(μg/mL)	测得量(μg/mL)	回收率(%)	\bar{X} (%)	RSD (%)
47.46	22.14	68.82	96.48	98.44	2.0
47.46	23.28	70.18	97.59		
47.46	49.26	95.98	98.50		
47.46	45.70	94.18	102.22		
47.46	73.84	119.84	98.02		
47.46	70.78	116.70	97.82		

2.4 样品含量测定

取 3 批样品,按供试品溶液制备方法制备供试液并测定。结果 3 批样品的芍药苷含量分别为 47.37,51.10,46.03 mg/支。

3 讨论

参考文献[3-4],笔者采用多个品牌的色谱柱和多种流动相(甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.1% 磷酸、甲醇-0.05 mol/L 磷酸二氢钾等)进行试验,结果发现芍药苷均有不同程度的拖尾现象,而以甲醇-0.1% 甲酸流动相系统可避免芍药苷拖尾。根据芍药苷对照品的紫外光谱图,芍药苷在 230 nm 波长处有最大吸收,故选

* 贵州省中药现代化科技产业研究开发专项基金项目,项目编号 黔科合农字[2006]5003。

活血溶栓丸薄层色谱鉴别

余卫兵

(河北省邯郸市药品检验所, 河北 邯郸 056001)

摘要:目的 探讨活血溶栓丸的质量控制方法。方法 用薄层色谱(TLC)法对方中的丹参、甘草、川芎进行鉴别。结果 各品种的薄层色谱特征明显,专属性强。结论 TLC法可以有效地控制活血溶栓丸的质量。

关键词:活血溶栓丸,质量控制,薄层色谱法

中图分类号:R284.1;R286.0

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2008)11-0023-01

活血溶栓丸由丹参、甘草、川芎、黄芪等中药制成,具有活血化瘀、溶栓调脂作用,临床用于脑梗塞等疾病,疗效较好。为有效控制产品质量,笔者采用薄层色谱(TLC)法对方中的丹参、甘草和川芎3味药材进行鉴别试验,结果满意。

1 仪器与试剂

SB2200型超声波清洗器(上海);硅胶G、硅胶GF₂₅₄(薄层析用,青岛海洋化工有限公司);对照药材与对照品(中国药品生物制品检定所);活血溶栓丸(邯郸市中医院,规格为9g/丸,批号分别为061101、061102、061103);所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 丹参^[1]

取本品9g,剪碎,加硅藻土4.5g,研细,加乙醚80mL,振荡,放置1h,滤过,滤液挥干,残渣加乙酸乙酯1mL使溶解,作为供试品溶液;另取丹参对照药材0.5g,同法制成对照药材溶液;再取丹参酮II_A对照品,加乙酸乙酯制成每1mL含2mg的对照品溶液;取缺丹参的阴性对照样品,同法制成阴性对照品溶液。照TLC法试验,吸取对照品溶液5μL及其他3种溶液各10μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯(6:1)为展开剂,展开,取出,晾干。供试品溶液色谱中,在与对照品及对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰(图1A)。

2.2 甘草^[1]

取本品9g,剪碎,加硅藻土4.5g,研细,加乙醚50mL,加热回流1h,滤过,乙醚液备用,药渣挥去溶剂,加甲醇80mL,超声处理30min,滤过,滤液蒸干,残渣加水30mL使溶解,加盐酸2mL与三氯甲烷20mL,加热回流1h,放冷,分取三氯甲烷液,水层再用三氯甲烷30mL,振荡提取,合并三氯甲烷液,蒸干,残渣加乙酸乙酯1mL使溶解,作为供试品溶液;另取甘草对照药材1g,同法制成对照药材溶液;再取甘草次酸对照品,加乙酸乙酯制成每1mL含0.5mg的对照品溶液;取缺甘草的阴性对照样品,同法制成阴性对照品溶液。照TLC法试验,吸取对照品溶液5μL及其他3种溶液各10μL,分别点于同一硅胶GF₂₅₄薄层板上,以正己烷-乙酸乙酯-冰醋酸(15:4:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(254nm)下检视。供试品溶液色谱中,在与对照品及对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的荧光斑点,阴性对照无干扰(图1B)。

2.3 川芎^[1]

取甘草鉴别项下乙醚液,挥干,残渣加乙酸乙酯1mL使溶解,

选择230nm波长为检测波长。

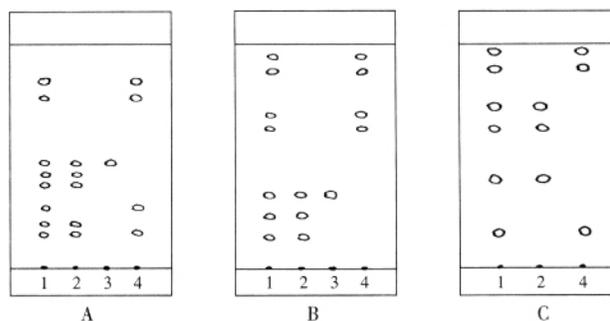
参照2005年版《中国药典》,笔者对该测定方法用不同品牌色谱柱、不同流动相比、不同检测波长和不同柱温等的耐用性进行研究,结果表明该方法耐用性良好。

作者简介:王永林,男,本文通讯作者,(电话)0851-6908899(电子信箱)gywyl@gmc.edu.cn。

参考文献:

[1] 肖培根. 新编中药志[M]. 北京:化学工业出版社,2002:493.

作为供试品溶液;另取川芎对照药材0.8g,加乙醚20mL,加热回流1h,滤过,滤液挥干,残渣加乙酸乙酯1mL使溶解,作为对照药材溶液;取缺川芎的阴性对照样品,同法制成阴性对照品溶液。照TLC法试验,吸取上述3种溶液各2μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以正己烷-乙酸乙酯(9:1)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365nm)下检视。供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的荧光斑点,阴性对照无干扰(图1C)。



1. 供试品溶液 2. 对照药材溶液 3. 对照品溶液 4. 阴性对照品溶液
A. 丹参 B. 甘草 C. 川芎
图1 薄层色谱图

3 讨论

丹参的主要成分为脂溶性成分丹参酮II_A、隐丹参酮和水溶性成分丹参素、原儿茶醛、原儿茶酸等,制备工艺中丹参是生药入药,故采用乙醚提取样品,并用丹参酮II_A为指标进行鉴别,选择环己烷-乙酸乙酯为展开剂,毒性、污染较小。对甘草的鉴别采用硅胶GF₂₅₄薄层板,以正己烷-乙酸乙酯-冰醋酸(15:4:1)为展开剂,色谱识别简便,斑点圆整,分离度好,易于区别。本试验确定的活血溶栓丸中丹参、甘草和川芎的TLC鉴别方法简便,结果可靠,为活血溶栓丸的质量控制提供了依据。

作者简介:余卫兵(1975-),男,河北邯郸人,本科,主管药师,研究方向为药物分析,(电话)0310-3111576-8007(电子信箱)hdyuweibing8978@sina.com.cn。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:化学工业出版社,2005:394,398,452,312,368,625,28,441.

(收稿日期 2007-09-29)

[2] 阮金兰,赵钟祥,曾庆忠,等. 赤芍化学成分和药理作用的研究进展[J]. 中国药理学通报,2003,19(9):965.

[3] DB52/YC001~420-2003,贵州省中药材、民族药材质量标准[S].

[4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:化学工业出版社,2005:109.

[5] 刘汶. 高效液相色谱法测定乳癖消片中芍药苷的含量[J]. 中国药业,2007,16(11):21.

(收稿日期 2007-09-20,修回日期 2007-12-10)