

高效液相色谱法测定明目地黄丸中芍药苷的含量

谭忠军,宋 军

(湖北省荆门市药品检验所,湖北 荆门 448000)

中图分类号:R927.2;R282.71

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2004)01-0047-01

摘要 目的:测定明目地黄丸中芍药苷的含量 方法:采用高效液相色谱法,以 Dikma Diamonsil(TM)C₁₈ 柱(200 mm × 4.6 mm, 5 μm)为色谱柱,乙腈-0.1%磷酸溶液(13:87)为流动相,流速为 1 mL/min,检测波长为 230 nm. 结果:芍药苷在 8.82~88.16 μg/mL 的浓度范围内呈线性关系,测得平均回收率为 99.7%,RSD 为 1.9%. 结论:高效液相色谱法操作简便,结果准确可靠,适用于明目地黄丸中芍药苷的含量测定.

关键词 高效液相色谱法;芍药苷;明目地黄丸;含量测定

明目地黄丸由熟地黄、山茱萸(制)、牡丹皮、山药、茯苓、泽泻、枸杞子、菊花、当归、白芍等 12 味中药组成,具有滋肾、养肝、明目的功效,用于治疗肝肾阴虚、目涩畏光、视物模糊、迎风流泪等症。《中国药典》^[1]收载明目地黄丸为水蜜丸、小蜜丸和大蜜丸,部颁标准^[2]收载为浓缩丸,均未对芍药苷的含量进行质量控制。笔者采用高效液相色谱法对明目地黄丸中芍药苷的含量进行测定,现报道如下。

1 仪器与试剂

Waters 高效液相色谱仪, Waters 2487 检测器, WDL-95 色谱工作站, 芍药苷对照品(供含量测定用,由中国药品生物制品检定所提供,批号为 0736-200117);明目地黄丸(浓缩丸:河南省宛西制药股份有限公司,批号为 20020307;湖北宜昌民康药业,批号为 020417.蜜丸:三九黄石制药厂,批号为 010902)均为市售品;乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 色谱条件

色谱柱: Dikma Diamonsil(TM)C₁₈ 柱(200 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.1%磷酸溶液(13:87);流速:1 mL/min;检测波长:230 nm;柱温:室温;灵敏度:0.500 0 AUFS;定量方法:外标法。在上述条件下,芍药苷色谱峰与样品中稀乙醇提取液的其他组分色谱峰达到了基线分离(图 1),在确定了上述色谱条件后,经阴性对照试验,结果阴性对照无干扰(图 1),证明此分离条件可行

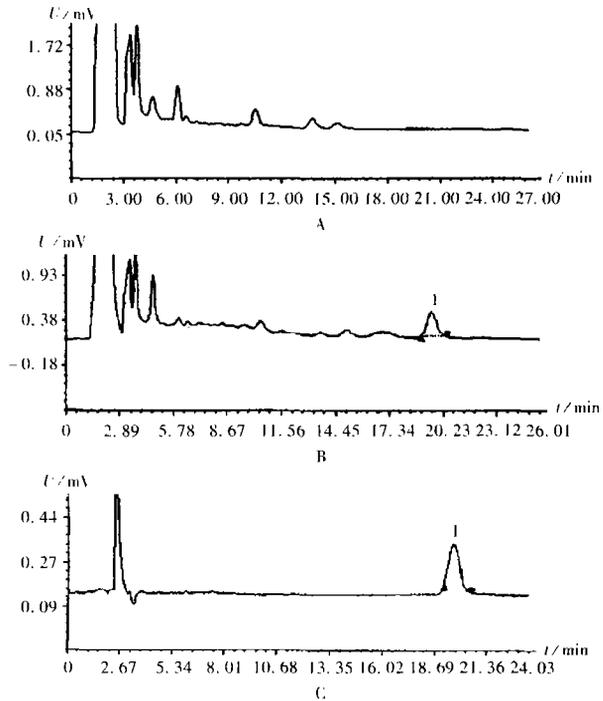
3 方法与结果

3.1 对照品贮备液的制备

精密称取芍药苷对照品 11.02 mg,置 50 mL 量瓶中,加稀乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备液。

3.2 供试品溶液的制备

精密称取本品细粉(过二号筛)约 0.5 g,置具塞锥形瓶中,精



A. 阴性对照溶液 B. 供试品溶液 C. 对照品溶液
1. 芍药苷

图 1 高效液相色谱图

密加入稀乙醇 25 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理 30 min, 放冷, 密塞, 再称定重量, 用稀乙醇补足减少重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。

细菌内毒素检查法进行检测, 分别做阴、阳性对照, 37℃ 保温 60 min, 结果见表 2。

表 2 碳酸氢钠注射液细菌内毒素法检查结果

供试品批号	细菌内毒素检查		阳性对照	阴性对照	合格率(%)
	λ ₀ (EU/mL)	管号			
020415	0.5	-	+	-	100
020625	0.5	-	+	-	100
020709	0.5	-	+	-	100
020722	0.5	-	+	-	100
020814	0.5	-	+	-	100
020825	0.5	-	+	-	100

2.6.2 样品热原检查

每批样品检查时均取家兔 3 只, 按家兔体重以 2 mL/kg 的剂量, 自耳静脉缓缓注入, 每隔 1 h 测量其体温 6 次, 共测 3 次。结果按 2000 年版《中国药典》热原检查法评定, 6 批样品均为合格产品

3 讨论

结果表明, 碳酸氢钠注射液经 2.5 倍稀释后可用灵敏度为 0.5 EU/mL 的鲎试剂进行细菌内毒素检查, 重现性较好。对于样品进行稀释是排除干扰因素的最简单有效方法。碳酸氢钠注射液通过 1:2.5 稀释处理, 样品 pH 值在 6.5~8.5 的范围内, 适合鲎试剂的反应水平, 并可消除样品对细菌内毒素水的抑制作用。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000; 附录 86.
 [2] 黄清泉, 许全明, 夏振民, 等. 泰素帝细菌内毒素检查法的建立[J]. 中国药房, 1996, 7(2): 85.
 [3] 段红梅, 白宝祥. 葡萄糖酸钙注射液中细菌内毒素法检查热原[J]. 中国医院药学杂志, 1999, 19(9): 526.

(收稿日期: 2003-09-07)

细菌内毒素检查法在血液制品热原质检测中的应用

张林,余兰,王春涛,董伟

(重庆益拓生物制药有限公司,重庆 400060)

中图分类号:R927.12

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2004)01-0048-02

摘要 目的:探索细菌内毒素检查法(BET)在血液制品的半成品、成品的热原质检测试验中的应用。方法:利用BET和热原质试验法(家兔法)对重庆益拓生物制药有限公司生产的3种血液制品的半成品、成品进行热原质检测试验,并在半成品、成品中分别加入一定量细菌内毒素进行挑战性试验。结果:通过大量的对比试验,利用BET和家兔法对3种血液制品的半成品、成品进行热原质检测试验的结果是一致的。结论:血液制品的半成品、成品的热原质检测试验可以采用BET。

关键词 血液制品;细菌内毒素检查法;热原质试验法

细菌内毒素检查法(BET)测定灵敏度高,检测范围宽,检测结果准确可靠。BET在制药行业中应用相当广泛,在我国药品质量控制GMP中已显示出越来越重要的作用。2000年版《中国药典》中有69个品种采用BET,2000年版《中国生物制品规程》中规定人血白蛋白半成品的热原质试验也可采用BET^[1]。由于BET涉及的操作环节多且要求较高,任何一种试剂、一个环节出问题都会导致检测结果的异常,因而目前BET在血液制品热原质检测中的应用受到一定的限制。笔者通过大量严格的试验后认为:只要操作规范,样品处理方法得当,血液制品的半成品、成品的热原质检测试验可以采用BET,热原质试验法(家兔法)由于灵敏度不及BET高,将逐渐被BET所代替。

1 材料和方法

1.1 材料

3.3 对照品溶液的制备

取对照品贮备液5 mL,置25 mL量瓶中,加稀乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。

3.4 线性关系的考察

精密吸取对照品贮备液1.0、3.0、5.0、8.0、10.0 mL,分别置25 mL量瓶中,加稀乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,各定量进样20 μL,按上述色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,芍药苷浓度为横坐标,绘制标准曲线,计算回归方程为:

$$Y = 2.292 \times 10^3 X - 5.916.2, r = 0.9997.$$

结果表明芍药苷在8.82~88.16 μg/mL的浓度范围内呈线性关系。

3.5 精密度的试验

取上述对照品溶液,重复进样5次,测定芍药苷峰面积,结果RSD为1.7%。

3.6 稳定性试验

取已配制的供试品溶液,每隔2 h测定一次峰面积积分值,共测6次,结果RSD为1.6%,表明供试品溶液在12 h内基本稳定。

3.7 重复性试验

取同一批样品5份,分别按含量测定方法测定,测得结果为2.314、2.342、2.398、2.302、2.384 mg/g, RSD = 1.8%。

3.8 加样回收率试验

精密称取5份已知芍药苷含量的样品(批号:20020307)粉末约0.3g,分别精密加入上述对照品贮备溶液2 mL,按供试品溶液制备方法制得供试液并测定芍药苷的含量,计算回收率,结果平均回收率为99.7%,RSD为1.9%(n=5),结果见表1。

3.9 样品的测定

试剂:厦门试剂厂生产,批号为20000523,灵敏度为0.25 EU/mL。对每批试剂均做了灵敏度复核试验^[2],其结果与标示灵敏度一致。试剂溶解水:厦门试剂厂生产,批号为20000611,内毒素含量<0.01 EU/mL。细菌内毒素工作品:厦门试剂厂生产,批号为20000509,10 EU/(mL·支),0.15 mol/L氢氧化钠溶液:用注射用水在无热原的容器中配制,配制后立即使用。

家兔:购自第三军医大学实验动物中心,生产许可证号为SCXK(渝)2000002,为符合热原质试验条件的家兔。

无热原质的玻璃器具:于250℃,30 min干烤灭热原,不能干烤的器具用10%的氢氧化钠溶液处理,最后用注射用水冲洗干净。

1.2 试验方法

1.2.1 热原质试验法(家兔法)

按2000年版《中国生物制品规程》中《热原质试验规程》进行。

表1 加样回收率试验结果

取样量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
0.3384	0.778	0.441	1.198	98.3		
0.3428	0.788	0.441	1.243	101.1		
0.3212	0.739	0.441	1.152	97.6	99.7	1.9
0.3128	0.719	0.441	1.184	102.1		
0.3157	0.726	0.441	1.158	99.2		

分别取供试品溶液及对对照品溶液,按上述色谱条件,注入液相色谱仪测定,按外标法计算芍药苷的含量。测定结果见表2。

表2 样品测定结果(n=3)

批号	含量(mg/g)	RSD(%)
20020307	2.3	1.9
020417	2.1	1.7
010902	1.8	1.9

4 讨论

4.1 检测波长的选择:对芍药苷的稀乙醇溶液在200~350 nm波长范围内进行扫描,芍药苷在230 nm波长处有最大吸收且灵敏度最高,故选定检测波长为230 nm。

4.2 在本色谱条件下,蜜丸和浓缩丸样品中芍药苷色谱峰峰形良好,分离效果较好,阴性对照为按蜜丸制备无干扰,结果表明采用高效液相色谱法测定明目地黄丸中芍药苷的含量,操作简便,精密度高,结果准确可靠,能够有效地控制产品的质量。

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,2000:493.
 [2] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准·中药成方制剂(第9册)[M]. 北京:[出版者不详],1994:94.

(收稿日期:2003-04-28;修回日期:2003-07-21)