

本试验首次建立了 HPLC-MS/MS 法测定地高辛片中羟基洋地黄毒苷和洋地黄毒苷的含量, 可以更加有效准确地控制地高辛片中主要有关物质的情况。

REFERENCES

- [1] LI W. The randomized controlled trial of effect of digoxin and

betaloc in patients with chronic heart failure and atrial fibrillation [J]. Pract J Cardiac Cereb Pneum Vasc Dis(实用心脑血管病杂志), 2010, 18(1): 14-15.

- [2] SONG M, CHEN G, LI Y J. Safety and efficacy assessment of digoxin combined with furosemide for chronic cardiac failure [J]. Clin Ration Drug Use(临床合理用药), 2012, 8(5):28-29.

- [3] Ch.P(2010)Vol II(中国药典 2010 年版. 二部) [S]. 2010: 246-247.

收稿日期: 2013-04-23

HPLC 测定宫血宁胶囊中重楼皂苷 I、II、VI 及 VII 的含量

陈锡琨(广西南宁食品药品检验所, 南宁 530001)

摘要: 目的 建立高效液相测定宫血宁胶囊中重楼皂苷 I、II、VI 及 VII 含量的方法。方法 色谱柱为 Phenomenex Luna C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相为乙腈(A)-水(B)梯度洗脱; 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 柱温为 25 °C; 检测波长为 203 nm。结果 重楼皂苷 I、II、VI 及 VII 分别在 2.024~14.168, 2.010~14.07, 2.016~14.112 及 2.032~14.224 μg·mL⁻¹ 内与峰面积呈良好的线性关系, *r* 分别为 0.999 8, 0.999 7, 0.999 8 和 0.999 8; 平均加样回收率分别为 99.0%(RSD=0.29%), 99.4%(RSD=1.13%), 99.4%(RSD=0.58%), 100.3%(RSD=0.95%)。结论 本法简便快捷, 具有良好的精密性和稳定性, 测定结果可靠, 可用于本产品的质量控制在。

关键词: 宫血宁胶囊; 高效液相色谱法; 重楼皂苷 I; 重楼皂苷 II; 重楼皂苷 VI; 重楼皂苷 VII

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2013)12-1346-04

Determination of Polyphyllin I, II, VI and VII in Gongxuening Capsule by HPLC

CHEN Xikun(Guangxi Nanning Institute for Food and Drug Control, Nanning 530001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method for determination of polyphyllin I, II, VI and VII in Gongxuening capsule. **METHODS** Phenomenex Luna C₁₈ column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) was used. Mobile phase was acetonitrile(A)-water(B) with gradient elute. The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹, the column temperature was 25 °C, the detection wavelength was 203 nm. **RESULTS** The content of polyphyllin I, II, VI and VII had a good linear relationship in the range of 2.024~14.168, 2.010~14.07, 2.016~14.112 and 2.032~14.224 μg·mL⁻¹, and *r* was 0.999 8, 0.999 7, 0.999 8 and 0.999 8, respectively. The average recoveries of them were 99.0%(RSD=0.29%), 99.4%(RSD=1.13%), 99.4%(RSD=0.58%), 100.3%(RSD=0.95%), respectively. **CONCLUSION** The methods is simple and quick, which has good precision and stability, the result is reliable and can be used for quality control of Gongxuening capsule.

KEY WORDS: Gongxuening capsule; HPLC; polyphyllin I; polyphyllin II; polyphyllin VI; polyphyllin VII

宫血宁胶囊是重楼加工制成的制剂, 具有凉血止血、清热除湿、化瘀止痛的作用, 用于崩漏下血、月经过多、产后或流产后宫缩不良出血及子宫功能性出血属血热妄行证者, 以及慢性盆腔炎之湿热带结所致的少腹痛、腰骶痛、带下增多等症, 收载于中国药典 2010 年版一部^[1]。中国药典规定了宫血宁胶囊中重楼皂苷 VI 的检测方法,

但是该方法只对宫血宁胶囊中重楼皂苷 VI 的含量进行检测, 成分含量检测单一很容易给不良商家借机假冒和制假, 造成医药市场混乱和正规生产企业经济损失。笔者查阅有关参考文献^[2], 未发现采用高效液相色谱法同时对宫血宁胶囊中重楼皂苷 I、II、VI 及 VII 的四种成分含量测定报道。故此, 笔者根据重楼商品药材的甾体皂苷含量测定

的有关文献^[1,3-4]。采用高效液相色谱梯度洗脱分离方法同时对宫血宁胶囊中重楼皂苷 I、II、VI及 VII 含量进行测定。结果证明该法简便易行,重复性好,专属性强,可用于宫血宁胶囊产品质量的控制。

1 仪器与试剂

美国 Warte Alliance e2695 高效液相色谱仪(美国 Warte 公司); BP211D 电子天平(瑞士梅特勒公司); YB-Z 型真空恒温减压干燥箱(天津药典标准仪器厂); KQ-300 型超声清洗器(功率 300 W, 55 Hz)(昆山市超声仪器有限公司); 重楼皂苷 I、II、VI 及 VII 对照品(中国药品生物制品检定所, 批号分别为: 111590-200402, 111591-200402, 111592-200402, 111593-200402, 均为供含量测定用); 宫血宁胶囊(市售, 云南某股份有限公司生产, 批号: ZH12001, ZH12002, ZH12005); 水为纯净水; 乙腈为色谱纯; 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备

2.1.1 对照品储备溶液 分别精密称取重楼皂苷 I、II、VI 及 VII 对照品(室温减压干燥 12 h 以上) 0.01 g, 分别置 5 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为储备溶液。

2.1.2 混合对照品溶液 精密量取储备溶液各 1 mL 置 5 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.2 样品的制备

取本品 20 粒的内容物, 混匀, 取约 0.5 g, 精密称定, 置 250 mL 锥形瓶中, 精密加入乙醇 25 mL, 称定重量, 摇匀, 超声提取 30 min, 取出放冷至室温, 用乙醇补足重量, 摇匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液即得。

2.3 色谱条件与系统适应性试验

色谱柱: Phenomenex Luna C₁₈(4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μm); 流速: 1.0 mL $\cdot$ min⁻¹; 柱温: 25 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长: 203 nm; 流动相: 以乙腈为流动相(A), 以水为流动相(B)梯度洗脱, 洗脱程序为: 0~40 min, 30%A $\rightarrow$ 60%A; 40~50 min, 60%A $\rightarrow$ 30%A。

分别精密吸取混合对照品溶液和供试品溶液各 10 μL , 注入高效液相色谱仪, 在上述色谱条件下, 供试品中重楼皂苷 I、II、VI 及 VII 与其他成分色谱峰能完全分离, 对测定无干扰。结果见图 1。

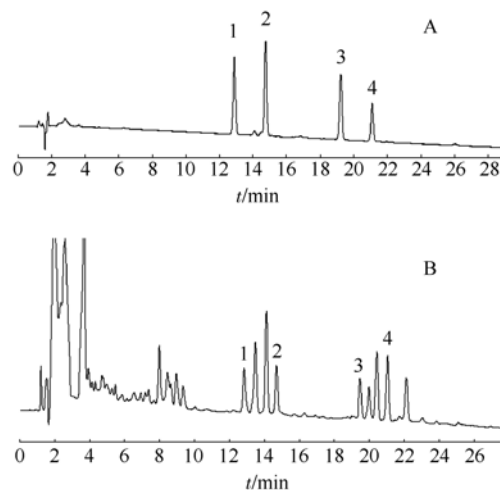


图 1 高效液相色谱图

A-对照品; B-供试品; 1-重楼皂苷 VII; 2-重楼皂苷 VI; 3-重楼皂苷 II; 4-重楼皂苷 I

Fig 1 HPLC chromatograms

A-control; B-sample; 1-polyphyllin VII; 2-polyphyllin VI; 3-polyphyllin II; 4-polyphyllin I

2.4 线性关系考察

精密量取重楼皂苷 I、II、VI 及 VII 对照品储备溶液适量加甲醇配制成浓度为 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0, 14.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的系列混合对照品溶液, 取 10 μL 按“2.3”项下色谱条件分别注入液相色谱仪分析, 以对照品浓度为横坐标(X), 以对照品峰面积为纵坐标(Y), 线性回归得: 重楼皂苷 I 回归方程: $Y=147\ 852X+48\ 098$, $r=0.999\ 8$; 重楼皂苷 II 的回归方程为 $Y=270\ 768X-16\ 000$, $r=0.999\ 7$; 重楼皂苷 VI 的回归方程为 $Y=365\ 591X-35\ 219$, $r=0.999\ 8$; 重楼皂苷 VII 的回归方程为 $Y=231\ 183X+14\ 369$, $r=0.999\ 8$ 。结果表重楼皂苷 I、II、VI 及 VII 对照品浓度分别在 2.024~14.168, 2.010~14.07, 2.016~14.112 及 2.032~14.224 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好。

2.5 仪器精密度试验

精密量取混合对照品溶液 10 μL 按“2.3”项下色谱条件重复进样 5 次测定, 结果重楼皂苷 I、II、VI 及 VII 峰面积 RSD($n=5$)分别为 0.57%, 1.20%, 0.86% 及 0.75%, 表明重楼皂苷 I、II、VI 及 VII 在该实验条件下具有良好的仪器精密度。

2.6 稳定性试验

取同一份(批号: ZH12001)供试品溶液分别于 2, 6, 12, 18, 24, 48 h, 按“2.3”项下色谱条件进样 10 μL 测定峰面积, 结果重楼皂苷 I、II、

VI及VII峰面积的 RSD 为分别为 0.93%, 1.02%, 0.82%及 0.91%, 表明供试品溶液在 48 h 内稳定。

2.7 重复性试验

取同一批号(批号: ZH12001)宫血宁胶囊样品按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 按“2.3”项下色谱条件测定, 重楼皂苷 I、II、VI及VII含量分别为 8.827, 2.464, 4.859 及 5.851 mg·g⁻¹(n=5), RSD 为 0.69%, 0.97%, 0.85%, 0.57%, 表明重复性良好。

2.8 加样回收率试验

取已知含量同一个批号的样品(批号: ZH12001)各 0.3 g, 精密称定, 共 6 份, 分别精密加入重楼皂苷 I、II、VI及VII对照品储备溶液各 1 mL(2.024, 2.010, 2.016, 2.032 mg), 按“2.2”项下方法制备回收溶液, 再按“2.3”项下色谱条件进行测定, 计算加样回收率, 结果见表 1。

表 1 回收率试验结果(n=6)

Tab 1 Results of recovery test (n=6)

主成分 (重楼皂苷)	样品含量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均值/ %	RSD/ %
I	4.437	2.024	6.417	99.32	99.0	0.29
	4.452	2.024	6.395	98.75		
	4.476	2.024	6.421	98.78		
	4.414	2.024	6.363	98.84		
	4.457	2.024	6.439	99.35		
	4.428	2.024	6.371	98.74		
II	1.246	2.010	3.213	98.68	99.4	1.13
	1.281	2.010	3.254	98.87		
	1.273	2.010	3.262	99.36		
	1.257	2.010	3.223	98.65		
	1.243	2.010	3.306	101.63		
	1.245	2.010	3.235	99.39		
VI	2.436	2.016	4.404	98.92	99.4	0.58
	2.462	2.016	4.467	99.75		
	2.471	2.016	4.471	99.64		
	2.433	2.016	4.412	99.17		
	2.468	2.016	4.432	98.84		
	2.459	2.016	4.488	100.29		
VII	2.876	2.032	4.923	100.31	100.3	0.95
	2.864	2.032	4.980	101.72		
	2.872	2.032	4.872	99.35		
	2.892	2.032	4.919	99.90		
	2.873	2.032	4.956	101.04		
	2.852	2.032	4.851	99.32		

2.9 样品含量测定

按“2.2”项下的配制方法, 按“2.3”项下的色谱条件对 3 个批号的宫血宁胶囊中重楼皂苷 I、II、VI及VII含量进行测定。结果见表 2。

表 2 样品测定结果(n=3)

Tab 2 Results of samples(n=3)

批号	重楼皂苷/ mg·g ⁻¹	样品含量/ %	RSD/%
ZH12001	I	8.827	0.87
	II	2.464	1.03
	VI	4.859	0.63
	VII	5.859	0.43
ZH12002	I	7.892	0.92
	II	2.203	1.13
	VI	4.325	0.75
	VII	5.229	0.54
ZH12005	I	8.238	0.62
	II	2.269	1.17
	VI	4.483	0.75
	VII	5.398	0.86

3 讨论

本实验分别采用甲醇和乙醇为溶剂, 水浴加热回流 30, 60 min, 超声处理 30, 60 min 方法对样品进行提取, 同时进行回收分析试验比较。结果显示, 采用加热回流方法, 2 种溶剂提取的测定结果和回收率均偏低, 而采用 2 种溶剂超声处理方法提取测定的结果非常接近(RSD<0.2%), 加样回收率均在 98%左右, 符合实验要求, 并且实验表明超声处理 30 min 提取时间已足够, 同时乙醇无毒, 环保。故选择乙醇作为溶剂, 超声处理 30 min 作为样品制备方法。

参考文献[5-7]采用乙腈-水等度洗脱系统和乙腈-水梯度洗脱系统进行试验比较, 结果表明后者峰型比较理想, 各杂质峰与测定成分分离良好。

供试品色谱图中, 在重楼皂苷VI及重楼皂苷VII和重楼皂苷 I 及重楼皂苷 II 2 个区间内均出现 2 个分离峰形比较完整的峰, 笔者猜想可能是重楼皂苷IV、V、III或重楼皂苷其他活性成分, 因实验时无对照品定性及相关文献报道, 所以不能确定其活性成分, 相关研究实验有待以后深入进行。

本方法能够把产品中各个待测活性成分很好地分离, 能为提高产品的质量提供科学参考, 对控制产品质量具有重要意义。

REFERENCES

- [1] Ch.P(2010)Vol I (中国药典 2010 年版. 一部) [S]. 2010: 962.
- [2] YANG T S, DANG W X, ZHANG W Y. Determination of Chonglou saponin contents in Gongxuening capsules by HPLC [J]. Northwest Pharm J(西北药学杂志), 2009, 24(6): 435-436.
- [3] HUANG Y, CUI L JG, LIU W N, et al. Analysis of steroidal saponins in Chonglou medicine by HPLC-ELSD [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2006, 31(15): 1230-1233.
- [4] XU L L, ZHAO L, XIA H, et al. Simultaneous determination of four steroidal saponins compounds in *Paris ployphylla* by RP-HPLC method [J]. J Pharm Pract(药学实践杂志), 2009, 27(3): 201-204.
- [5] SONG X N, XU Q L, MAO X J. Determination of Chonglou saponin I, Chonglou saponin II in Compound Yanlian capsules by HPLC [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2008, 33(2): 196-197.
- [6] WU S, WU W, ZHENG Y L. Simultaneous determination of four steroidal saponins compounds in *Paris ployphylla* by high performance liquid chromatography reversed-phase [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2007, 18(8): 1896-1897.
- [7] JIANG Z J. Determination of Paridis saponins in Tongxuekang capsule by HPLC [J]. Strait Pharm J(海峡药学), 2010, 22(8): 87-88.

收稿日期: 2013-03-09

HPLC 测定人血浆中亚胺培南的浓度

王盈盈, 王陈翔, 胡卢丰, 周子晔, 张秀华* (温州医科大学附属第一医院药学部, 浙江 温州 325000)

摘要: 目的 建立测定人血浆中亚胺培南浓度的 HPLC 方法。方法 以 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 尿素为稳定剂, 以 5-溴脲嘧啶为内标, 血浆样品经乙腈沉淀蛋白, 二氯甲烷 2 次提取去杂质, 取水相进样。色谱柱为 Atlantis C₁₈(4.6 mm×150 mm, 5 μm); 流动相为甲醇-10 mmol·L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液(pH=6.0)(4:96); 流速为 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 柱温: 25 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长: 300 nm。结果 亚胺培南在 $0.5 \sim 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 内线性关系良好, $r=0.9997$; 定量下限为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 平均绝对回收率 82.72%, 方法回收率为 87.60%~96.36%; 日内、日间 RSD 均 <10%。结论 本方法简单、快捷、灵敏、准确, 适用于亚胺培南临床血药浓度的监测。

关键词: 高效液相色谱法; 亚胺培南; 人血浆

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2013)12-1349-04

Determination of Imipenem in Human Plasma by HPLC

WANG Yingying, WANG Chenxiang, HU Lufeng, ZHOU Ziyue, ZHANG Xiuhua* (Department of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method for the detection of imipenem in human plasma. **METHODS** Samples were spiked with $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ urea as stabilizer solution, 5-bromine urea pyrimidine as internal standard, proteins were precipitated with acetonitrile followed by extraction with dichloromethane and the upper aqueous phase was injected. Separation was achieved on an Atlantis C₁₈ column (4.6 mm×150 mm, 5 μm). The mobile phase composed of methanol and 10 mmol·L⁻¹ monopotassium phosphate (pH=6.0)(4:96) with a flow rate of $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. The column temperature was 25 $^{\circ}\text{C}$. The UV detection wavelength was 300 nm. **RESULTS** Calibration curves of imipenem showed good linear regression in the range of $0.5 \sim 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ($r=0.9997$). The lower limit of quantification of imipenem was $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. The mean absolute recovery was 82.72%, and the method recovery was 87.60%~96.36%. Intra- and inter-day variations were <10%. **CONCLUSION** The established method is simple, sensitive and accurate for determining imipenem in human plasma.

KEY WORDS: HPLC; imipenem; human plasma

亚胺培南为碳青霉烯类广谱抗菌药物, 对 β -内酰胺酶稳定, 临床用于耐 β -内酰胺类的革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌引起的感染^[1], 目前已成为治

疗严重细菌感染最主要的抗菌药物之一。作为时间依赖性抗菌药物, 亚胺培南的最佳抗菌活性通常在其有效抑菌浓度的时间不低于 2 次给药间隔

作者简介: 王盈盈, 女, 药师 Tel: (0577)88069551 E-mail: 15401297@qq.com
(0577)88069699 E-mail: wzzhangxiuhua@163.com

***通信作者:** 张秀华, 女, 硕士, 主任药师, 硕士 Tel: