

• 质量标准 •

血塞通滴丸的质量标准研究

闫 荟, 钟 蕾, 王苏会, 王 瑞, 赵汉臣*
(北京军区总医院药剂科, 北京 100700)

[摘要] 目的: 制定血塞通滴丸的质量标准。方法: 以薄层色谱(TLC)法进行定性鉴别, 以高效液相色谱(HPLC)法测定人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Rb₁ 和三七皂苷 R₁, 采用 C₁₈柱, 流动相为乙腈-水系统梯度洗脱, 检测波长: 203 nm, 流速: 1.0 mL·min⁻¹, 柱温: 室温。结果: TLC 法可以很好地鉴别滴丸中的主要成分; HPLC 法测定人参皂苷 Rb₁、人参皂苷 Rg₁ 的线性范围为 0.2~1.0 μg, 三七皂苷 R₁ 的线性范围为 0.1~0.5 μg。其总平均回收率为 97.93%。结论: 方法可行, 重复性好, 可用于血塞通滴丸的质量控制。

[关键词] 血塞通滴丸; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)11-0001-04

Study on Qualitative and Quantitative Methods for Xuesaitong Dropping Pills

YAN Hui, ZHONG Lei, WANG Su-hui, WANG Rui, ZHAO Han-chen*

(Department of pharmacy, General Hospital of Beijing Military Command Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To develop the Qualitative and Quantitative Methods of Xuesaitong dropping pills. **Methods:** TLC method was used for identification. Ginsenoside Rg₁, Ginsenoside Rb₁ and notoginsenoside R₁ in dropping pills were determined by HPLC. The assay was carried out on an ODS column, eluted with acetonitrile-water in the gradient mode. The detection wavelength was set at 203 nm, the flow rate was set at 1.0 mL·min⁻¹, and the column temperature was room temperature. **Results:** The major components were well identified. For ginsenoside Rg₁ and ginsenoside Rb₁, the linear ranges were from 0.2 μg to 1.0 μg, and for notoginsenoside R₁, the linear range was from 0.1 μg to 0.5 μg, and total average recovery was 97.93%. **Conclusion:** The methods were feasible, reproducible and can be applied to the quality control of Xuesaitong dropping pills.

[Key words] Xuesaitong dropping pills; TLC; HPLC

血塞通滴丸是以我国中药部颁标准第 17 册收载的血塞通片改变剂型而得, 血塞通滴丸由三七总皂苷(Panax Notoginseng Saponins, PNS) 加适量基质滴制而成, 具有活血祛瘀、通脉活络, 抑制血小板聚集和增加脑血流量等作用^[1]。滴丸剂具有起效迅速、生物利用度高等特点。将血塞通片剂改成滴丸剂, 可以提高其生物利用度, 更利于患者使用。为建立

准确、可控的质量标准体系, 保证药品质量, 我们进行了质量标准及其方法学的研究。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 岛津 CS-9301 薄层扫描仪(日本岛津制作所); 岛津 LC-20AT 色谱系统(日本岛津公司, CBM-20A 系统控制器, SPD-20A UV-VIS 检测器, LC-20AT 溶液传输单元, CTO-20AC 色谱柱柱温箱, SIL-20A 自动进样器, LC solution 工作站); 色谱柱: Diamonsil C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); BJ602 型片剂崩解仪(北京医疗设备四厂); AY220 型 SHIMADZ 托盘分析天平(日本岛津公司)。

[收稿日期] 2008-03-12

[通讯作者] * 赵汉臣, Tel: (010) 66721268; E-mail: zhc254@263.net

1.2 试药 药品: 血塞通滴丸, 每丸含 PNS10mg(本院制剂中心生产, 批号: 040321, 040322, 040323)。对照品: 人参皂苷 Rg₁ (110703-200322)、人参皂苷 Rb₁ (110704-200318)、三七皂苷 R₁ (110745-200312) 均由中国药品生物制品检定所提供。试剂: 甲醇、乙腈为色谱纯; 乙酸乙酯为分析纯, 水为纯化水。

2 薄层色谱鉴别

2.1 供试品溶液的制备 取血塞通滴丸 20 丸, 研细, 精密称适量(约相当于 PNS50 mg), 置 10 mL 量瓶中, 加 90% 甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 量取 5 mL, 浓缩至 1 mL, 即得。

2.2 对照品溶液的制备 分别精密称量人参皂苷 Rb₁、人参皂苷 Rg₁ 及三七皂苷 R₁ 对照品, 加甲醇制成每 1 mL 各含 2 mg 的溶液, 作为对照品溶液。

2.3 阴性对照溶液的制备 取缺 PNS 的滴丸样品 0.1 g, 按 2.1 项下供试品溶液制备方法制备, 即得。

2.4 薄层色谱鉴别 照薄层色谱法^[1] 试验, 分别吸取已制备好的供试品、对照品、阴性对照溶液各 10 μL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以乙酸乙酯-甲醇(6:4) 的下层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以硫酸乙醇溶液(1→10), 于 105 °C 烘约 10 min 显色。供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 阴性无干扰。见图 1。

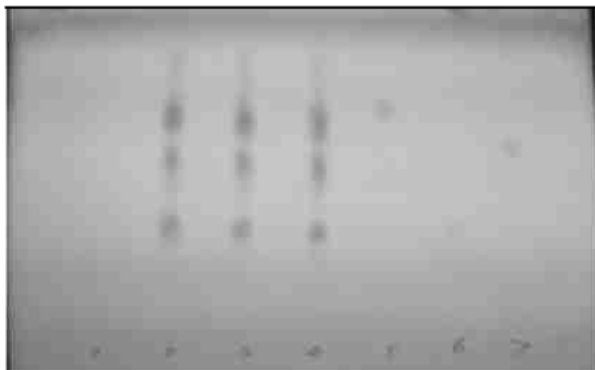


图 1 血塞通滴丸 TLC 图

1 阴性样品; 2~4 3 批样品; 5 人参皂甙 Rg₁; 6 三七皂甙 R₁; 7 人参皂甙 Rb₁

3 含量测定

参照三七^[2]、三七片^[2] 的国家标准、血塞通注射液质量标准(试行)^[3] 及有关文献, 采用高效液相色谱法^[1] 测定血塞通滴丸中人参皂苷 Rb₁、人参皂苷 Rg₁ 及三七皂苷 R₁ 的含量。以标示量的百分含量表示。其 PNS 含量应不低于标示量的 80.0%。

3.1 色谱条件 色谱柱: Diamonsil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈(A)-水(B) 系统梯度洗脱,

时间程序见表 1; 检测波长: 203 nm, 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 柱温: 室温; 理论塔板数按三七皂苷 R₁ 计算应不低于 4 000。

表 1 流动相梯度洗脱时间程序

时间(min)	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0	20	80
20	40	60
21	20	80
26	20	80

3.2 供试品溶液的制备 取血塞通滴丸 20 丸, 研细, 精密称适量(约相当于 PNS50 mg), 置 10 mL 量瓶中, 加 90% 甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

3.3 对照品溶液的制备 分别精密称取在 60 °C 减压干燥 2 h 的人参皂苷 Rb₁、人参皂苷 Rg₁、三七皂苷 R₁ 对照品适量, 加 90% 甲醇制成每 1 mL 含人参皂苷 Rb₁ 1 mg、人参皂苷 Rg₁ 1 mg、三七皂苷 R₁ 0.5 mg 的混合溶液, 即得。

3.4 空白对照溶液的制备 取缺 PNS 的滴丸样品 0.1 g, 按 3.2 项下供试品溶液制备方法制备, 即得。

3.5 测定方法 按照 3.1 项下色谱条件, 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 测定即得。

3.6 专属性试验(空白对照试验) 分别取供试品溶液、对照品溶液与空白对照溶液, 按 3.5 项下测定方法进样, 得到样品、对照品、空白对照品的 HPLC 图(见图 2), 空白对照品色谱中, 在与相应的人参皂苷 Rb₁、人参皂苷 Rg₁、三七皂苷 R₁ 出峰时间处无干扰峰出现, 表明该方法适合血塞通滴丸的含量测定。

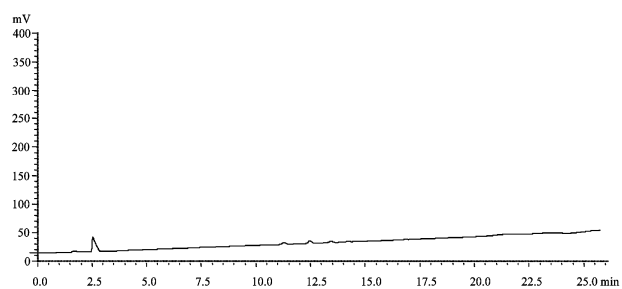
3.7 线性关系考察 从对照品溶液中精密吸取 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mL, 分别置 25 mL 量瓶中, 加 90% 甲醇稀释至刻度, 摇匀, 各取 10 μL, 按 3.5 项下测定方法测定峰面积, 以峰面积积分为纵坐标, 进样量(μg) 为横坐标, 绘制标准曲线, 回归方程为:

$$\text{人参皂苷 Rb}_1: Y = 1.13 \times 10^5 X - 3.36 \times 10^4 \\ r = 0.9999 (n = 5)$$

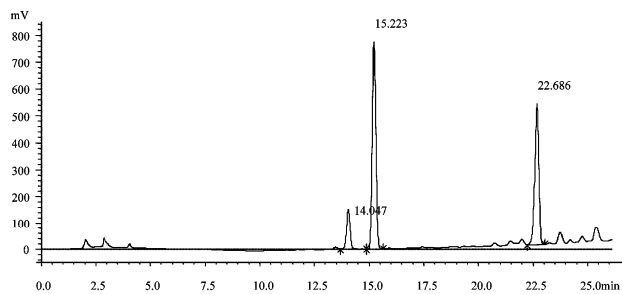
$$\text{人参皂苷 Rg}_1: Y = 1.15 \times 10^5 X - 3.43 \times 10^4 \\ r = 0.9999 (n = 5)$$

$$\text{三七皂苷 R}_1: Y = 1.13 \times 10^5 X - 3.35 \times 10^4 \\ r = 0.9999 (n = 5)$$

人参皂苷 Rb₁、人参皂苷 Rg₁ 进样量在(0.2~1.0) μg 范围内, 其浓度与峰面积有良好的线性关系。

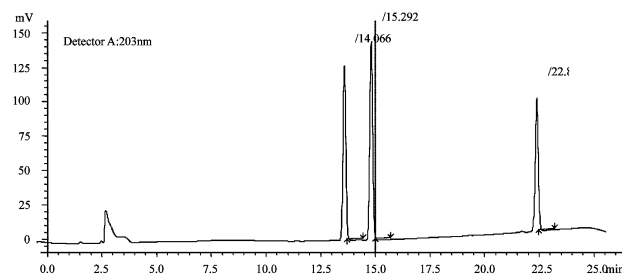


A 空白对照



1-R₁, 2-R_{g1}, 3-R_{b1}

B 样品



1-R₁, 2-R_{g1}, 3-R_{b1}

C PNS 对照品

图 2 HPLC 色谱图

三七皂苷 R₁ 进样量在(0.1~0.5) μg 范围内,其浓度与峰面积有良好的线性关系。

3.8 精密度试验 精密吸取人参皂苷 R_{b1}、人参皂苷 R_{g1}、三七皂苷 R₁ (每 1 mL 含人参皂苷 R_{b1} 5 mg、人参皂苷 R_{g1} 1.5 mg、三七皂苷 R₁ 0.4 mg) 混合对照品溶液 10 μL, 按 3.5 项下测定方法检测, 重复进样 5 次, 测量峰面积, 结果表明精密度良好, 详见表 2。

3.9 稳定性试验 取滴丸(批号: 040321) 适量研碎, 按 3.2 项下供试品溶液的制备方法制备, 按 3.5 项下测定方法检测, 分别在 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 进样测定, 表明样品溶液在 10 h 内基本稳定, 结果见表 3。

3.10 重复性试验 取同一批次滴丸(批号: 040321) 样品, 按 3.2 项下方法制备供试品溶液, 按 3.5 项下方法重复测定样品 5 次, 结果表明重复好, 见表 4。

3.11 加样回收率试验 采用加样回收法, 精密称取已知含量的同一批次的血塞通滴丸样品(批号: 040321) 0.5 g, 按 3.2 项下方法制备样品溶液, 精确

表 2 精密度试验结果(n=5)

样品	次数	峰面积	平均峰面积	RSD(%)
人参皂苷 R _{b1}	1	809 359.9	809 365.72	0.000 4
	2	809 367.1		
	3	809 368.3		
	4	809 364.7		
	5	809 368.6		
人参皂苷 R _{g1}	1	1 091 784.7	1 091 785.9	0.000 2
	2	1 091 782.2		
	3	1 091 788.3		
	4	1 091 786.6		
	5	1 091 787.5		
三七皂苷 R ₁	1	989 320.9	989 325.4	0.000 3
	2	989 326.8		
	3	989 329.1		
	4	989 327.3		
	5	989 322.9		

表 3 稳定性试验测定结果(n=5)

时间 (min)	标示量百分 含量(%)	平均标示量 百分含量(%)	RSD (%)
0	95.5	94.45	0.99
120	94.9		
240	95.3		
360	94.2		
480	93.6		
600	93.2		

表 4 重复性试验测定结果(n=5)

次数	称样量 (g)	标示量百分 含量(%)	平均标示量 百分含量(%)	RSD (%)
1	0.976 3	95.43	95.83	0.85
2	0.975 8	96.31		
3	0.969 2	94.82		
4	0.970 0	95.67		
5	0.990 0	96.93		

表 5 准确度试验测定结果(n=6)

取样量 (g)	三七总皂 苷量(mg)	加入三七总 皂苷量(mg)	测得三七总 皂苷量(mg)	回收率 (%)	平均回 收率(%)	RSD (%)
0.517 0	110.10	100	204.3	97.24	97.93	0.99
0.498 8	106.22	100	200.4	97.18		
0.496 2	105.67	100	204.9	99.63		
0.501 9	106.88	100	203.8	98.51		
0.497 5	105.95	100	201.3	97.74		
0.507 6	108.10	100	202.5	97.31		

加入三七总皂苷对照品, 按 3.5 项下方法测定其含量, 并计算回收率, 结果见表 5。

3.12 样品含量测定 取 3 批中试生产滴丸样品按 3.2 项下方法制备样品溶液, 按 3.5 项下方法测定其含量, 结果见表 6。

表 6 样品含量测定($n=3$)

批号	三七总皂苷	标示量百分	平均标示量	RSD
	量(mg/丸)	含量(%)	百分含量(%)	
040321	9.583	95.83		
040322	9.195	91.95	93.15	2.50
040323	9.167	91.67		

4 讨论

在薄层色谱鉴别中,我们曾试用提取时以正丁醇萃取,选择三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水、三氯甲烷-甲醇-水、正丁醇-乙酸乙酯-水等多种展开剂进行试验,但分离效果不理想,经反复试验,最后选择样品用甲醇直接溶解后,以乙酸乙酯-甲醇做展开剂,结果斑点鲜明,消除了背景干扰。

本试验采用 HPLC 法测定血塞通滴丸中人参皂苷 R_{g_1} 、人参皂苷 R_{b_1} 、三七皂苷 R_1 的含量,不仅可很好地对药品质量进行控制,且该方法简便可靠,重

复性好。

人参皂苷 R_{g_1} 、人参皂苷 R_{b_1} 、三七皂苷 R_1 因结构相似,分离困难,在含量测定时,需采取梯度洗脱,本研究对多种色谱条件进行筛选,但均不能使人参皂苷 R_{g_1} 、人参皂苷 R_{b_1} 、三七皂苷 R_1 三者之间很好分离。经过多次试验,最后采用了血塞通注射液质量标准(试行)中的流动相作为本试验的流动相系统,分离度高、系统适应性好,适宜于血塞通滴丸的含量测定。

[参考文献]

- [1] 中华人民共和国卫生部. 中华人民共和国卫生部药品标准[S]. 中药成方制剂, 第 17 册, 1990: 104, 107, 108.
- [2] 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: 附录 10-11, 31-35, 323.
- [3] 国家药典标准委员会一室. 血塞通注射液质量标准(试行) [S]. 中国药品标准, 2001, 7(4): 29-30.