

郁李仁配方颗粒的质量标准研究^Δ

晏小云*(江阴天江药业有限公司,江苏 江阴 214434)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)03-0386-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.03.31

摘要 目的:建立郁李仁配方颗粒的质量标准。方法:采用薄层色谱(TLC)法对郁李仁配方颗粒中的苦杏仁苷进行定性分析,采用高效液相色谱(HPLC)法测定制剂中苦杏仁苷的含量。色谱柱为GP-Phenyl,流动相为乙腈-水(10:90, V/V),流速为0.8 ml/min,检测波长为210 nm,柱温为30 ℃,进样量为5 μl。结果:苦杏仁苷的TLC图斑点清晰、分离较好,阴性对照无干扰。苦杏仁苷质量浓度在50.92~611.04 μg/ml范围内与其峰面积积分值呈良好线性关系($r=0.999\ 8$);精密度的RSD<2%,稳定性、重复性试验的RSD<3%;平均加样回收率为101.07%,RSD为0.64%($n=6$)。结论:该方法操作简单、灵敏、专属性强、重复性好,可作为郁李仁配方颗粒的质量控制方法。

关键词 郁李仁配方颗粒;薄层色谱法;高效液相色谱法;苦杏仁苷;质量标准

Quality Standard of Pruni Semen Formula Granules

YAN Xiao-yun(Jiangyin Tianjiang Pharmaceutical Co., Ltd., Jiangsu Jiangyin 214434, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard of Pruni Semen formula granules. METHODS: Pruni Semen formula granules were identified by TLC. The content of amygdalin was determined by HPLC. The determination was performed on GP-Phenyl column with mobile phase consisted of acetonitrile-water (10:90, V/V) at the flow rate of 0.8 ml/min. The detection wavelength was set at 210 nm, and column temperature was 30 ℃. The sample size was 5 μl. RESULTS: TLC spots of amygdalin were clear and well-separated without interference from negative control. The linear range of amygdalin was 50.92-611.04 μg/ml ($r=0.999\ 8$) with an average recovery of 101.07% (RSD=0.64%, $n=6$). RSD of precision test was lower than 2%, and RSDs of stability and reproducibility tests were lower than 3%. CONCLUSIONS: The method is simple, sensitive, specific and reproducible, and can be used for the quality control for Semen pruni formula granules.

KEYWORDS Pruni Semen formula granules; TLC; HPLC; Amygdalin; Quality standard

郁李仁为蔷薇科植物欧李 *Prunus humilis* Bge.、郁李 *P. japonica* Thunb.或长柄扁桃 *P. pedunculata* Maxim.的干燥成熟种子,具有润燥滑肠、下气、利水之功效^[1]。郁李仁中含有的苦杏仁苷为其主要药效成分,是临床常用的祛痰止咳剂和辅助性抗癌药物^[2-4]。为有效控制郁李仁配方颗粒的质量,笔者参考原国家食品药品监督管理局《中药配方颗粒管理暂行规定》的相关要求,采用高效液相色谱(HPLC)法对郁李仁配方颗粒的质量标准进行了研究。

1 材料

1.1 仪器

1260型HPLC仪(美国Agilent公司);REPROSTAR 3型薄层自动成像仪(瑞士CAMAG公司);BS110S型万分之一天平(德国赛多利斯公司);十万分之一电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司);KQ-250B型超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司);硅胶G薄层板(20 cm×10 cm,青岛海洋化工厂)。

1.2 药品与试剂

郁李仁配方颗粒(江阴天江药业有限公司,批号:1210008、1207085、1202037、1110100、1107095、1101086、1009031、1003112、0907216);苦杏仁苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号:1108020-201305,纯度>98%);其余试剂均为分

参考文献

- [1] 边洪容,李小娜,王会敏,等.重楼的研究及应用进展[J].中药材,2002,25(3):218.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:243.
- [3] 云南省药物研究所.云南天然药物图鉴:第四卷[M].昆明:云南科技出版社,2007:298.
- [4] 中国科学院昆明植物研究所.云南植物志:第八卷[M].北京:科学出版社,1997:654.
- [5] 李恒.重楼属植物[M].北京:科学出版社,1998:27.
- [6] 江纪武.药用植物辞典[M].天津:天津科学技术出版社,2005:571.
- [7] 中国中医研究院中药研究所.全国中草药名鉴:上册[M].北京:人民卫生出版社,1996:987.
- [8] 黄芸,崔力剑,王强,等.南重楼 *Paris vietnamensis* 活性物质的分离与鉴定[J].药学学报,2006,41(4):361.
- [9] 高群,呼梅,徐陆平,等.丹重楼剂质量标准研究[J].中国药房,2008,19(12):924.

^Δ 基金项目:上海市中药标准化研究项目(No. ZYSNXD-CC-BZH)

* 研究员,硕士。研究方向:中药质量标准。电话:0512-58451790。E-mail:573960078@qq.com

(收稿日期:2013-12-27 修回日期:2014-03-06)

(编辑:孙冰)

析纯。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别

取本品 1.0 g, 加甲醇 20 ml, 超声(功率: 300 W, 频率: 50 kHz)处理 20 min, 放冷, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水 10 ml 分散, 用水饱和的正丁醇溶液萃取 2 次, 每次 15 ml, 合并萃取液, 蒸干, 加 1 ml 甲醇使溶解, 摇匀, 作为供试品溶液。另取苦杏仁苷对照品适量, 加甲醇制成每 1 ml 含 5 mg 苦杏仁苷的溶液, 作为对照品溶液。照薄层色谱(TLC)法[2010年版《中国药典》(一部)附录 VIB]试验, 吸取上述两种溶液各 5 μ l, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-乙酸乙酯-甲醇-水溶液(3:8:5:2, V/V/V/V)于 10 $^{\circ}$ C 以下放置的下层溶液为展开剂, 展开, 取出, 立即喷以 5% 香草醛硫酸乙醇试液, 于 105 $^{\circ}$ C 烘箱中加热 5~10 min, 置于日光下检视。结果, 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。TLC 图见图 1。

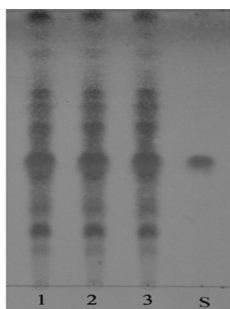


图 1 薄层色谱图

1~3. 供试品; S. 苦杏仁苷对照品

Fig 1 TLC chromatograms

1-3. test sample; S. amygdalin reference control

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱: GP-Phenyl(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈-水(10:90, V/V); 流速: 0.8 ml/min; 检测波长: 210 nm; 柱温: 30 $^{\circ}$ C; 进样量: 5 μ l。理论板数按苦杏仁苷峰计算应不低于 3 000; 分离度 > 1.5。高效液相色谱图见图 2。

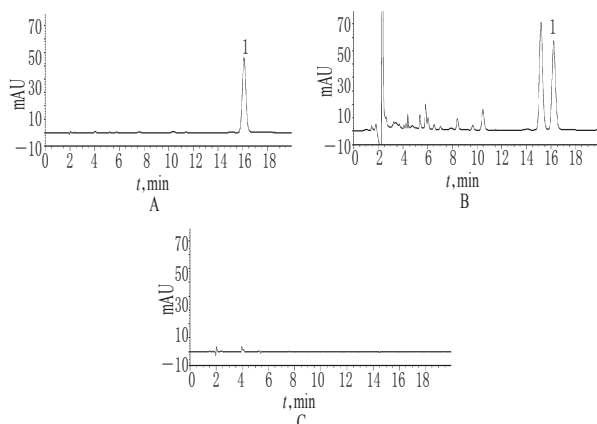


图 2 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 苦杏仁苷

Fig 2 HPLC chromatograms

A. control sample; B. test sample; C. negative control; 1. amygdalin

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取苦杏仁苷对照品适量, 加甲醇制成质量浓度为 1.018 4 mg/ml 的溶液, 即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密称取本品细粉约 0.1 g, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入稀乙醇溶液 25 ml, 称定质量, 加热回流提取 30 min, 放冷, 再次精密称定, 加稀乙醇溶液补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.4 线性关系考察 分别精密吸取“2.2.2”项下对照品溶液 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 ml 于 10 ml 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度。按“2.2.1”项下色谱条件分别进样 5 μ l, 记录峰面积。以峰面积(y)为纵坐标、质量浓度(x, μ g/ml)为横坐标, 进行线性回归, 得回归方程为: $y = 5.3906x + 41.788$ ($r = 0.9998$)。结果表明, 苦杏仁苷的质量浓度在 50.92~611.04 μ g/ml 范围内与其峰面积积分值呈良好线性关系。

2.2.5 精密度试验 精密吸取“2.2.2”项下对照品溶液 3.0 ml 于 10 ml 量瓶中, 加甲醇定容, 按“2.2.1”项下色谱条件连续进样 6 次。结果 RSD = 0.22%, 表明仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 取供试品溶液适量, 分别于放置 0、2、4、8、12、24 h 时按“2.2.1”项下色谱条件进样测定。结果 RSD = 0.87%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.2.7 重复性试验 取郁李仁配方颗粒(批号: 1210008)适量, 按“2.2.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定。结果苦杏仁苷的平均质量分数为 4.89%, RSD = 2.08%, 表明本方法重复性良好。

2.2.8 加样回收率试验 精密称取已知含量的本品粉末(批号: 1210008)0.05 g, 共 6 份, 分别精密加入苦杏仁苷对照品各适量, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积, 计算加样回收率, 结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 1 Results of recovery tests(n=6)

已知含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
2.429 5	2.502 5	4.933 5	100.06		
2.477 5	2.502 5	5.012 0	101.28		
2.482 0	2.502 5	5.022 5	101.52	101.07	0.64
2.504 5	2.502 5	5.053 0	101.84		
2.512 0	2.502 5	5.043 0	101.14		
2.416 5	2.502 5	4.933 5	100.58		

2.2.9 样品含量测定 取 9 批郁李仁配方颗粒样品, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 测定峰面积, 重复 2 次, 计算苦杏仁苷的质量分数, 结果见表 2。根据实验结果, 规定本品按干燥品计算, 含苦杏仁苷($C_{20}H_{27}NO_{11}$)不得少于 1.5%。

表 2 样品含量测定结果(n=2)

Tab 2 Results of content determination of samples(n=2)

批号	质量分数,%	批号	质量分数,%
1210008	4.86	1101086	1.70
1207085	5.42	1009031	1.70
1202037	5.01	1003112	5.86
1110100	1.72	0907216	1.81
1107095	1.75		

3 讨论

预试验中, 笔者采用 2010 年版《中国药典》(一部)中郁李仁的 TLC 鉴别方法: 用甲醇超声提取后, 将滤液蒸干, 再用甲醇溶解制备供试品溶液, 以磷钼酸溶液为显色剂。结果该方法斑点拖尾严重, 分离度差, 斑点显色不清晰。而本研究所采用的方法斑点清晰、分离度好^[1,5-6]。

在研究郁李仁配方颗粒的含量测定方法中发现, 采用文献方法或者 2010 年版《中国药典》苦杏仁苷的含量测定项下的色谱条件[以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 以乙腈-水

RP-HPLC法同时测定自制复方雷帕霉素栓剂中雷帕霉素和他克莫司的含量^Δ

叶丛丛^{1*},傅红兴^{2#},周伟忠³,吴岚岚³,廖丽²,黄斌炯²(1.温州市人民医院,浙江温州 325000;2.温州医科大学药学院,浙江温州 325035;3.义乌市中医医院药剂科,浙江义乌 322000)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)03-0388-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.03.32

摘要 目的:建立同时测定自制复方雷帕霉素栓剂中雷帕霉素和他克莫司含量的方法。方法:采用反相高效液相色谱法。色谱柱为Agilent Eclips XDB-C₁₈,流动相为乙腈-3.3%磷酸溶液(65:35,V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为210 nm,柱温为50 ℃,进样量为20 μl。结果:雷帕霉素和他克莫司质量浓度在8.0~400.0 μg/ml范围内与各自峰面积积分值呈良好线性关系($r=0.9999$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD≤1.18%;平均回收率分别为101.28%、97.99%,RSD分别为2.99%、1.94%($n=3$)。结论:该方法操作简便、准确,专属性强、重复性好,可用于自制复方雷帕霉素栓剂中雷帕霉素和他克莫司含量的测定。

关键词 雷帕霉素;他克莫司;栓剂;含量测定;反相高效液相色谱法

Simultaneous Determination of Rapamycin and Tacrolimus in Self-made Compound Rapamycin Suppository by RP-HPLC

YE Cong-cong¹,FU Hong-xing²,ZHOU Wei-zhong³,WU Lan-lan³,LIAO Li²,HUANG Bin-jiong²(1.Wenzhou People's Hospital, Zhejiang Wenzhou 325000, China;2.School of Pharmacy, Wenzhou Medical College, Zhejiang Wenzhou 325035,China;3.Dept. of Pharmacy, Yiwu Hospital of TCM, Zhejiang Yiwu 322000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for the content determination of rapamycin and tacrolimus in self-made Compound rapamycin suppository. METHODS: RP-HPLC method was adopted. The determination was performed on Agilent Eclips XDB-C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-3.3% phosphoric acid (65:35, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 210 nm, and column temperature was 50 ℃. Sample size was 20 μl. RESULTS: The linear range of rapamycin and tacrolimus were 8.0-400.0 μg/ml ($r=0.9999$). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were ≤1.18%. The average recoveries of rapamycin and tacrolimus were 101.28% (RSD=2.99%, $n=3$) and 97.99% (RSD=1.94%, $n=3$) separately. CONCLUSIONS: The method is simple, accurate, specific and reproducible, and can be used for the content determination of rapamycin and tacrolimus in self-made Compound rapamycin suppository.

KEYWORDS Rapamycin; Tacrolimus; Suppository; Content determination; RP-HPLC

(12:88, V/V)为流动相,检测波长为210 nm),苦杏仁苷峰与另一未知峰难以分离;而采用本试验的色谱条件,苦杏仁苷峰与另一未知峰能达到基线分离,峰形可得到明显改善^[1,7-9]。

笔者还比较了超声和回流两种提取方式对苦杏仁苷含量的影响,结果发现回流提取效率更高,因此本研究选用了回流提取的方式。此外,笔者还考察了水、30%甲醇、50%甲醇、70%甲醇、乙醇、30%乙醇、稀乙醇、70%乙醇和乙醇等9种溶剂对苦杏仁苷的提取效率,结果发现稀乙醇提取效果最好、苦杏仁苷的含量最高,因此最终选择稀乙醇为提取溶剂。

综上所述,该方法操作简单、灵敏、专属性强、重复性好,可作为郁李仁配方颗粒的质量控制方法。

参考文献

[1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年

Δ 基金项目:义乌市科研计划项目(No.13-3-28)

* 主管药师。研究方向:药学分析。电话:0577-86699575

通信作者:讲师,硕士。研究方向:药物新剂型和新制剂的开发。电话:0577-86699575

版.北京:中国医药科技出版社,2010:209.

[2] 邢国秀,李楠,杨美燕,等.天然苦杏仁苷的研究进展[J].中成药,2003,25(12):1007.

[3] 元艺兰,郁李仁的药理作用与临床应用[J].现代医药卫生,2007,23(13):1987.

[4] 夏其乐,王涛,陆胜民,等.苦杏仁苷的分析、提取纯化及药理作用研究进展[J].食品科学,2013,34(21):403.

[5] 钱平,刘志辉,钱芳,等.桃仁定性鉴别与含量测定研究[J].中国药事,2010,24(4):351.

[6] 袁丹,胡爽,杜慧琴,等.橘红丸中苦杏仁苷的定性、定量分析方法的研究[J].中国药理学杂志,2002,37(11):857.

[7] 钱平,贾云,刘志辉,等.高效液相色谱法测定郁李仁中苦杏仁苷的含量[J].中国中医药信息杂志,2009,16(12):50.

[8] 王艳平,田杰,张宁惠.小儿清热止咳合剂的标准研究[J].中国药房,2006,17(2):138.

(收稿日期:2014-07-30 修回日期:2014-10-04)

(编辑:孙冰)