

HPLC法测定复方依沙吡啶软膏中乳酸依沙吡啶的含量^Δ

刘俊丽*, 田佳懿, 段松冷, 曾蔚欣, 金锐, 孙路路[#](首都医科大学附属北京世纪坛医院药剂科, 北京 100038)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)15-2109-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.15.31

摘要 目的:建立测定复方依沙吡啶软膏中乳酸依沙吡啶含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Agilent ZORBAX SB-C₁₈,流动相为含0.1%辛烷磺酸钠溶液的磷酸盐缓冲液-乙腈(70:30, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为270 nm,柱温为30 ℃,进样量为10 μl。结果:乳酸依沙吡啶检测质量浓度线性范围为10.002~50.010 μg/ml($r=0.999\ 9$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD<1%;回收率为98.96%~100.36%,RSD=0.49%($n=9$)。结论:该方法简便、灵敏、重复性好,可用于复方依沙吡啶软膏中乳酸依沙吡啶的含量测定。

关键词 复方依沙吡啶软膏;乳酸依沙吡啶;含量测定;高效液相色谱法

Content Determination of Ethacridine Lactate in Compound Ethacridine Ointment by HPLC

LIU Junli, TIAN Jiayi, DUAN Songleng, ZENG Weixin, JIN Rui, SUN Lulu (Dept. of Pharmacy, Beijing Shijitan Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100038, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of ethacridine lactate in Compound ethacridine ointment. METHODS: HPLC was performed on the column of Agilent ZORBAX SB-C₁₈ with mobile phase of 0.1% Octanesulfonic acid sodium solution-acetonitrile (70:30, V/V) at a flow rate of 1.0 ml/min, the detection wavelength was 270 nm, the column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear range of ethacridine lactate was 10.002-50.010 μg/ml ($r=0.999\ 9$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were less than 1%; recovery was 98.96%-100.36% (RSD=0.49%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate and reproducible, and can be used for content determination of ethacridine lactate in Compound ethacridine ointment.

KEYWORDS Compound ethacridine ointment; Ethacridine lactate; Content determination; HPLC

复方依沙吡啶软膏是我院临床使用多年的自制制剂,为含乳酸依沙吡啶的复方制剂,具有抗感染、收敛作用,用于急性或亚急性湿疹的继发感染、脓疱疮及脓性皮肤病的治疗,疗效较好、价格低廉。但该制剂原质量标准中无含量测定项目,笔者通过查阅文献,也没有发现该制剂中乳酸依沙吡啶含量测定的方法报道。为更好地控制该制剂质量,保证临床用药的安全、有效,参考《中国药典》2015年版(二部)及相关文献^[1-3],本试验建立了高效液相色谱(HPLC)法测定该制剂中乳酸依沙吡啶的含量。

1 材料

1.1 仪器

1260型HPLC仪,包含1260型化学工作站、四元泵、标准型自动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器(美国安捷伦公司);AE240型电子天平和SevenCompact pH计(瑞士梅特勒-托利多公司);JET BIOFIL针头式过滤器(聚偏氟乙烯,13 mm×0.22 μm,广州洁特生物过滤制品有限公司)。

1.2 药品与试剂

乳酸依沙吡啶对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100290-201002,纯度:94.3%);乳酸依沙吡啶原料(辽源市银鹰制药有限责任公司,批号:A201409001);复方依沙吡啶软膏(我科自制,批号:20150520-1、20150520-2、20150520-3,规格:

本品100 g含乳酸依沙吡啶0.1 g);甲醇、乙腈为色谱纯,辛烷磺酸钠、磷酸二氢钠、磷酸为分析纯,水为蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适应性试验

色谱柱:Agilent ZORBAX SB-C₁₈(150 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:含0.1%辛烷磺酸钠的磷酸盐缓冲液-乙腈(70:30, V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:270 nm;柱温:30 ℃;进样量:10 μl。在上述色谱条件下,理论板数按乳酸依沙吡啶峰计均>3 000,分离度均>2.0。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取乳酸依沙吡啶对照品约50 mg,置于100 ml量瓶中,用流动相溶解并定容,制成质量浓度为0.500 1 mg/ml的对照品贮备液。精密量取上述对照品贮备液2.0 ml,置于50 ml量瓶中,用流动相定容,摇匀,用0.22 μm滤膜滤过,取续滤液,作为对照品溶液(含乳酸依沙吡啶20.004 μg/ml),备用。

2.2.2 供试品溶液 取样品约2 g,精密称定,置于100 ml量瓶中,加流动相约70 ml,水浴加热,振荡使乳酸依沙吡啶完全溶解,用流动相定容,摇匀,置于冰浴中冷却,不断振荡至基质凝固,取溶液用0.22 μm滤膜滤过,取续滤液,放至室温,作为供试品溶液,备用。

2.2.3 阴性对照溶液 按复方依沙吡啶软膏处方及制备工艺配制不含乳酸依沙吡啶的阴性样品,按“2.2.2”项下方法制备成阴性对照溶液,备用。

2.3 阴性干扰试验

分别取“2.2”项下对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液

Δ 基金项目:首都卫生发展科研专项项目(No.2011-2008-01)

* 药师。研究方向:药品质量控制。电话:010-63926353。

E-mail:583799483@qq.com

[#] 通信作者:主任药师,硕士生导师。研究方向:医院药学。电话:010-63926362。E-mail:sunlulu@126.com

各10 μl,注入HPLC仪,记录色谱,详见图1。结果表明,样品中其他组分对乳酸依沙吡啶含量测定没有干扰。

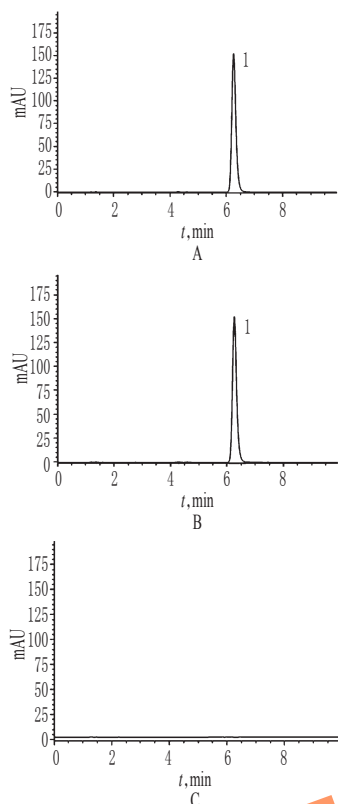


图1 高效液相色谱图

A.对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.乳酸依沙吡啶

Fig 1 HPLC chromatograms

A. reference substance; B. test sample; C. negative control; 1. ethacridine lactate

2.4 线性关系考察

精密量取“2.2.1”项下对照品贮备液1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 ml,分别置于50 ml量瓶中,用流动相定容,摇匀,制成系列对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以乳酸依沙吡啶质量浓度($x, \mu\text{g/ml}$)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $y=83.99x+21.58$ ($r=0.9999$)。结果表明,乳酸依沙吡啶检测质量浓度线性范围为10.002~50.010 $\mu\text{g/ml}$ 。

2.5 精密度试验

取“2.2.1”项下对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,乳酸依沙吡啶峰面积的RSD=0.18% ($n=6$),表明仪器的精密度良好。

2.6 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:20150520-1)适量,分别遮光于室温下放置0、2、4、6、8 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,乳酸依沙吡啶峰面积的RSD=0.18% ($n=5$),表明供试品溶液在遮光室温放置8 h内具有较好的稳定性。

2.7 重复性试验

按“2.2.2”项下方法处理同一批(批号:20150520-1)样品,制成供试品溶液,共6份,并按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,按外标法计算标示量的百分含量。结果,乳酸依沙吡啶标示量的百分含量为99.62%,RSD=0.66% ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.8 回收率试验

取乳酸依沙吡啶对照品约40、50、60 mg,各3份,精密称定,按处方量加入不含乳酸依沙吡啶的空白辅料,研磨均匀,配制成低、中、高质量浓度(为标示量的80%、100%、120%)的模拟样品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,按外标法以峰面积计算含量并计算回收率,结果见表1。

表1 回收率试验结果($n=9$)

Tab 1 Results of recovery test ($n=9$)

加入量,mg	测得量,mg	回收率,%	平均回收率,%	RSD,%
40.12	40.26	100.36		
40.28	40.18	99.76		
40.19	39.77	98.96		
50.28	49.98	99.40		
50.11	50.17	100.12	99.75	0.49
49.98	49.68	99.40		
60.18	60.15	99.95		
60.09	59.76	99.46		
60.28	60.49	100.36		

2.9 样品含量测定

取3批样品各适量,每批3份,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积,按外标法以峰面积计算含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果($n=3$)

Tab 2 Results of content determination of samples ($n=3$)

样品批号	标示量的百分含量,%	平均含量,%	RSD,%
20150520-1	99.48	99.72	0.30
	99.65		
	100.05		
20150520-2	98.23	98.66	0.45
	98.63		
	99.11		
20150520-3	99.78	99.60	0.26
	99.31		
	99.72		

3 讨论

3.1 方法的建立

鉴于复方依沙吡啶软膏原质量标准中无含量测定项目,也未查阅到该复方制剂中乳酸依沙吡啶含量测定的相关文献,故笔者参考《中国药典》2015年版(二部)中乳酸依沙吡啶注射液的含量测定方法及相关文献,经过多次试验摸索,建立了HPLC法测定该制剂中乳酸依沙吡啶的含量。方法学验证结果表明,所建方法具有简便、灵敏、准确、重复性好、回收率高的优点。

3.2 滤器的选择

该制剂为复方制剂,处方中的硼酸及氧化锌在溶剂中溶解度小,普通定量滤纸过滤时会堵塞滤纸,吸附乳酸依沙吡啶,从而影响含量测定结果,并且过滤速度慢、效率低、耗时长。在滤器选择时,笔者参考相关文献^[4],经多次试验后选用高分子材料聚偏氟乙烯制成的0.22 μm 针头式过滤器,其过滤速度快,且大大降低了滤器对含量测定结果的影响。

3.3 溶剂的选择

该制剂为软膏剂,乳酸依沙吡啶在溶剂中的释放不充分是试验中的瓶颈。笔者参考《中国医院制剂规范——西药制剂(第二版)》^[5]以及相关文献^[6-8]中乳酸依沙吡啶的含量测定方法,经多次试验,先后选用蒸馏水、流动相、0.05 mol/L 硫酸溶

昆布药材中聚合酚类成分研究^Δ

张名利*, 姜云飞, 吴 操, 甄翩翩, 胡冬华, 李 勇[#](长春中医药大学药学院, 长春 130117)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)15-2111-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.15.32

摘要 目的:研究昆布药材中聚合酚类成分。方法:利用硅胶柱层析、Sephadex LH-20 色谱柱等对药材中聚合酚类成分进行分离纯化,根据理化性质和波普数据分析鉴定化合物结构。结果:从昆布药材中共分离得到7个聚合酚类化合物,分别鉴定为间苯三酚(1)、昆布醇(2)、Fucodiphloroethol G(3)、Phlorofucofuroeckol A(4)、1-(3',5'-dihydro-xyphenoxy)-7-(2'',4'',6-trihydro-xyphenoxy)-2,4,9-trihydroxydibenzo-1,4-dioxin(5)、Dieckol(6)和6,6'-bieckol(7)。结论:化合物5、7均为首次从昆布药材中分离得到,本研究为昆布药材质量评价奠定了一定基础。

关键词 昆布;提取分离;聚合酚类成分;结构鉴定

Study on the Phlorotannins in *Ecklonia kurome*

ZHANG Mingli, JIANG Yunfei, WU Cao, ZHEN Aoxuan, HU Donghua, LI Yong (School of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study on the phlorotannins in *Ecklonia kurome*. METHODS: Silica gel column chromatography and Sephadex LH-20 column chromatography were conducted for isolation and identification of phlorotannins, and the compound structures were analyzed and identified based on physicochemical properties and spectral data. RESULTS: Totally 7 phlorotannins were isolated from *E. kurome*, namely Phloroglucinol (1), Eckol (2), Fucodiphloroethol G (3), Phlorofucofuroeckol A (4), 1-(3',5'-dihydro-xyphenoxy)-7-(2'',4'',6-trihydro-xyphenoxy)-2,4,9-trihydroxydibenzo-1,4-dioxin (5), Dieckol (6) and 6,6'-bieckol (7). CONCLUSIONS: Compound 5 and 7 are isolated from *E. kurome* for the first time, and the study has laid a foundation for its quality evaluation.

KEYWORDS *Ecklonia kurome*; Extraction and isolation; Phlorotannins; Structure identification

昆布是海带科植物海带 *Laminaria japonica* Aresch 或翅藻科植物昆布 *Ecklonia kurome* Okam 的干燥叶状体^[1]。异名海带、纶布、海昆布、裙带菜等,属于褐藻门藻类,除了含有绿藻门常含有的叶绿素 α 、胡萝卜素和叶黄素外,还含有藻褐素(Fucoxanthin),其多为大型藻类,体型较大,可长达20余米。始载于汉末的《名医别录》,作为一种重要的海生资源,其药用与食用价值很早就为世人所知,《嘉佑本草》记载海带能“去瘿行水,下气化痰”。具有软坚散结、消痰、利水之功效,主治瘰

瘤、瘰疬、睾丸肿痛、痰饮水肿。

现代研究发现,昆布中主要成分为多糖、天然蛋白质、脂肪、纤维素、矿物质和核酸等^[2],其中多糖主要有褐藻酸钠,又称褐藻胶,在昆布中含量约为19.7%),褐藻淀粉(又称昆布多糖、海藻硫酸多糖、褐藻多糖,在昆布中含量约为1%)、褐藻糖胶(又称岩藻糖胶,主要成分为岩藻多糖,又称岩藻聚糖)。多糖昆布中还含有少量的木糖、半乳糖、葡糖醛酸和蛋白质^[3]。目前被证明的药理作用有降血糖、降血压、抗凝血、免

液、无水乙醇、无水乙醇-0.05 mol/L 硫酸溶液(1:1, V/V)(取无水乙醇 500 ml,加 0.05 mol/L 硫酸溶液稀释至 1 000 ml,即得)作为溶剂。结果表明,选用流动相作为溶剂最适宜,操作过程中需注意水浴加热时间充分并不断振摇,以使含量测定的结果更加准确。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:二部[S]. 2015年版. 北京:中国医药科技出版社, 2015:680.
- [2] 曹嫣嫣, 胡蓉梅, 龚睿林, 等. 乳酸依沙吡啶溶液的制备及质量标准研究[J]. 中国药房, 2010, 21(21):1 987.

^Δ 基金项目:吉林省科技厅科技支撑计划重点攻关项目(No.20130206068YY)

* 硕士研究生。研究方向:天然产物化学。E-mail:284893072@qq.com

[#] 通信作者:教授,硕士生导师。研究方向:天然产物及新药。E-mail:liyong_6067@hotmail.com

- [3] 吴继禹, 王志强, 黄学荪, 等. 乳酸依沙吡啶凝胶的研制及质量控制[J]. 中国药师, 2010, 13(10):1 477.
- [4] 王庆芬, 郑绍忠. 复方乳酸依沙吡啶散中乳酸依沙吡啶含量测定方法研究[J]. 解放军医药杂志, 2014, 26(5):82.
- [5] 卫生部药政局. 中国医院制剂规范:西药制剂:第二版[S]. 北京:中国医药科技出版社, 1995:23.
- [6] 马萍, 吴诚, 王景成, 等. HPLC法同时测定复方乳酸依沙吡啶溶液中两种组分的含量[J]. 中国药物应用与监测, 2014, 11(3):149.
- [7] 苗彩云, 陈江飞. HPLC法测定复方乳酸依沙吡啶溶液中乳酸依沙吡啶和间苯三酚的含量[J]. 中国临床药理学杂志, 2011, 20(5):294.
- [8] 北京市食品药品监督管理局. 北京市医疗机构制剂规程[S]. 北京:中国商业出版社, 2014:161.

(收稿日期:2015-10-24 修回日期:2016-04-10)

(编辑:周 箐)