

HPLC法测定脑塞通蜜丸中毛蕊花糖苷的含量

边 帅^{1*},于士婷¹,白雪媛^{1#},赵大庆¹,赵 雨¹,王丽丽²(1.长春中医药大学药学院,长春 130117;2.石家庄人民医学高等专科学校,石家庄 050091)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)21-2993-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.21.37

摘要 目的:建立脑塞通蜜丸中毛蕊花糖苷含量测定的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Zorbax ODX,流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液(16:84, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为334 nm,柱温为30 ℃,进样量为10 μl。结果:毛蕊花糖苷检测进样量线性范围为0.200~1.000 μg($r=0.999\ 8$);精密度、稳定性、重复性试验的RSD<1%;加样回收率为95.16%~99.78%,RSD=1.80($n=6$)。结论:该方法操作简便、结果准确,适用于脑塞通蜜丸中毛蕊花糖苷的含量测定。

关键词 脑塞通蜜丸;毛蕊花糖苷;高效液相色谱法

Content Determination of Verbascoside in Naosaitong Honeyed Pill by HPLC

BIAN Shuai¹, YU Shiting¹, BAI Xueyuan¹, ZHAO Daqing¹, ZHAO Yu¹, WANG Lili²(1.College of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China; 2.Shijiazhuang People's Medical College, Shijiazhuang 050091, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of verbascoside in Naosaitong honeyed pill. METHODS: HPLC was performed on the column of Zorbax ODX with mobile phase of acetonitrile -0.1% phosphoric acid(16:84, V/V) at a flow rate of 1.0 ml/min, the detection wavelength was 334 nm, column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear range of verbascoside was 0.200-1.000 μg($r=0.999\ 8$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 1%; recovery was 95.16%-99.78% (RSD=1.80, $n=6$). CONCLUSIONS: The method is simple and accurate, and suitable for the content determination of verbascoside in Naosaitong honeyed pill.

KEYWORDS Naosaitong honeyed pill; Verbascoside; HPLC

脑塞通蜜丸由干漆(炭)、土鳖虫、地龙、列当(酒制)、地黄等21味中药材制成,具有活血化瘀、导滞化痰、通经活络、增强体力、调节免疫的功效,用于脑血栓、脑栓塞、脑淤血后遗症、肢体偏瘫、手足麻木、语言障碍等症^[1]。脑塞通蜜丸处方来源于《中华人民共和国卫生部药品标准》(中药成方制剂第十七册)收载的脑塞通丸,标准编号为WS-B-3311-98。

现有关于蜜丸的报道^[2-4]中,大部分是对蜜丸的制作工艺考察,极少部分是对蜜丸的质量研究。地黄是脑塞通蜜丸中的臣药,其根含有环烯醚萜苷氨基酸和糖类等多种化学成分,具有提高免疫力、增强造血功能、抗肿瘤和抗阴虚等多种药理作用。2015年版《中国药典》(第一部)中规定对地黄进行梓醇和毛蕊花糖苷的含量测定^[5]。但由于蜜丸制作过程中温度稍高,对地黄中有效成分梓醇有较大影响,且梓醇出峰时间较早,阴性对照在梓醇相应的保留时间附近有干扰峰出现,故本试验只对地黄中的毛蕊花糖苷进行测定,通过采用高效液相色谱法(HPLC)建立了测定脑塞通蜜丸中毛蕊花糖苷含量的方法,旨在为该中药制剂的质量研究提供必要补充。

1 材料

1.1 仪器

1100型HPLC仪,包括G1311A型四元泵、G1315B型二级管阵列检测器、G1322A型脱气机、ChemStation数据处理系统(美国Agilent公司);KQ-3200B型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率:150 W,频率:40 kHz);HH-2型恒温水浴锅(江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司);DHG-9070A型电

热鼓风干燥箱(上海一恒科技有限公司);CP225D型万分之一电子天平(德国Sartorius公司)。

1.2 药品与试剂

脑塞通蜜丸(吉林特研药业有限公司,批号:20141201、20141202、20141203、20141204、20141205,规格:7.5 g/丸);毛蕊花糖苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号:15040713,纯度:99.57%);乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Zorbax ODX(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.1%磷酸溶液(16:84, V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:334 nm;柱温:30 ℃;进样量:10 μl。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取毛蕊花糖苷对照品适量,置于10 ml量瓶中,加流动相溶解并定容,制成每1 ml含毛蕊花糖苷0.424 mg的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取样品2丸,烘干,粉碎,取约2.0 g,精密称定,置于250 ml具塞锥形瓶中,加甲醇50 ml,称定质量,加热回流提取1.5 h,放冷,再次称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取滤液,蒸干溶剂,残渣加流动相溶解,转移至10 ml量瓶中,加流动相定容,摇匀,滤过,即得。

2.2.3 阴性对照溶液 按样品制备工艺和配方比例取不含地黄的处方,制成缺地黄的阴性样品,再按“2.2.2”项下供试品溶液的制备方法操作,即得。

2.3 系统适用性与专属性试验

精密量取“2.2”项下对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各10 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详

* 硕士研究生。研究方向:中药有效成分以及产品开发。电话:0431-81660061。E-mail:328130803@qq.com

通信作者:副研究员,硕士。研究方向:中药有效成分及产品开发。E-mail:baixy1212@163.com

见图1。结果,各色谱峰的分离度 >1.5 ,理论板数以毛蕊花糖苷峰计 $>5\ 000$,保留时间为15.658 min;同时,其他成分对测定无干扰。

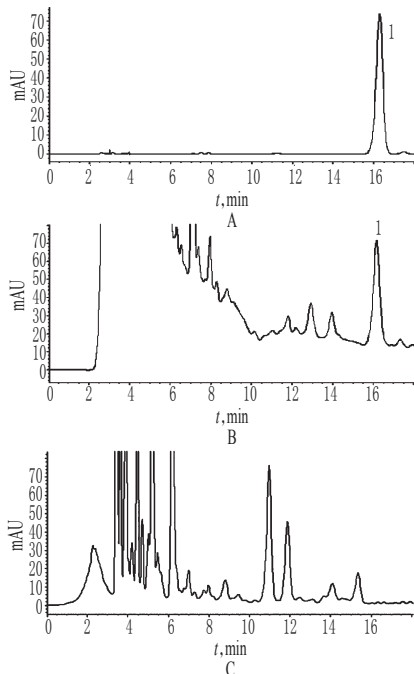


图1 高效液相色谱图

A.对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.毛蕊花糖苷

Fig 1 HPLC chromatograms

A.reference substance;B.test sample;C.negative control; 1.verbasco-side

2.4 线性关系考察

精密称取毛蕊花糖苷对照品适量,按“2.2.1”项下方法制成质量浓度分别为20、40、60、80、100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的系列对照品溶液,分别精密量取各10 μl ,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以毛蕊花糖苷进样量($x, \mu\text{g}$)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得毛蕊花糖苷的回归方程为 $y=422.64x-4.979\ 2$ ($r=0.999\ 8$)。结果表明,毛蕊花糖苷检测进样量线性范围为0.200~1.000 μg 。

2.5 检测限与定量限考察

取“2.2.1”项下对照品溶液适量,逐级稀释100、1 000、5 000倍,分别制得质量浓度为4.24、0.424、0.084 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的系列对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,当信噪比为3:1时,毛蕊花糖苷的检测限为0.084 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。取“2.2.1”项下对照品溶液适量,逐级稀释10、100、1 000倍,分别制得质量浓度为42.4、4.24、0.424 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的系列对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,信噪比为10:1时毛蕊花糖苷的定量限为0.424 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

2.6 精密度试验

精密量取“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,毛蕊花糖苷峰面积的RSD=0.43%($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

取同一供试品溶液(批号:20141201)适量,分别于室温下放置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,毛蕊花糖苷峰面积的RSD=0.59%($n=5$),表明供试品溶液在室温放置8 h内稳定性良好。

2.8 重复性试验

取同一样品(批号:20141201)适量,共6份,精密称定,分

别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算毛蕊花糖苷的平均含量。结果,毛蕊花糖苷的平均含量为0.853 mg/g ,RSD=0.37%($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.9 加样回收率试验

取样品(批号:20141201)约2.0 g,精密称定,置于250 ml具塞锥形瓶中,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果($n=6$)

Tab 1 Results of recovery test($n=6$)

取样量,g	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
2.102 6	1.794 0	1.700 0	3.454 1	97.65		
1.998 6	1.705 0	1.700 0	3.401 2	99.78		
2.041 3	1.741 0	1.700 0	3.433 5	99.56	98.12	1.80
2.012 4	1.717 0	1.700 0	3.372 5	97.38		
2.000 6	1.707 0	1.700 0	3.393 5	99.21		
1.998 9	1.705 0	1.700 0	3.322 7	95.16		

2.10 样品含量测定

取5批样品各适量,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算毛蕊花糖苷的含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果($n=6$)

Tab 2 Results of content determination of samples($n=6$)

批号	毛蕊花糖苷含量, mg/g	平均含量, mg/g	RSD,%
20141201	0.851		
20141202	0.859		
20141203	0.856	0.852	0.606
20141204	0.847		
20141205	0.848		

3 讨论

3.1 供试品溶液提取方法的选择

笔者参考相关文献^[6-7]考察了不同提取方式(回流提取、超声提取和索氏提取)、不同溶剂(70%乙醇、甲醇)对本试验含量测定的影响。结果,以甲醇经回流提取的提取率最高,且经方法学验证其专属性好。因此,本试验选择甲醇为提取溶剂、回流提取为提取方式。

3.2 流动相的选择

笔者参考相关文献^[8-10]对流动相进行选择,分别考查了乙腈-0.1%冰乙酸、甲醇-0.1%冰乙酸、乙腈-0.1%磷酸等不同流动相及不同比例。由于磷酸酸性比冰乙酸强,可调节pH,且其不易挥发,由其配制的流动相较用冰乙酸更稳定。因此,最后确定以乙腈-0.1%磷酸溶液为本试验的流动相。

综上所述,本方法操作简便、结果准确,适用于脑塞通蜜丸中毛蕊花糖苷的含量测定。

参考文献

- [1] 孙业成,李亚荣.高效液相色谱法测定脑塞通丸中人参皂苷Rg₁、Re、Rb₁的含量[J].中国药师,2008,11(6):652.
- [2] 罗仁书,何治勇.中药蜜丸的制备及质量控制[J].实用中医药杂志,2013,29(10):871.
- [3] 李红梅.中药蜜丸的制作及常见问题分析[J].时珍国医国药,2013,24(10):2 418.
- [4] 谢强胜,谢春红,王坤,等.橘红丸(大蜜丸)及蜂蜜中5-羟甲基糠醛含量测定[J].中国药事,2013,27(6):597.
- [5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:116.

比沙可啉原料药和肠溶片中有关物质测定方法研究

张西如*, 孙 婷, 郭永辉, 刘红莉, 赫晓军, 苗会娟, 盖 成(河北省药品检验研究院, 石家庄 050011)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)21-2995-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.21.38

摘要 目的:建立测定比沙可啉原料药和肠溶片中有关物质的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Hibar C₁₈,流动相为乙腈-20 mmol/L 乙酸铵溶液(冰乙酸调pH至5.0)(55:45, V/V),检测波长为265 nm,流速为1.0 ml/min,柱温为30 ℃,进样量为20 μl。结果:在该色谱条件下各杂质及其与主成分之间均分离良好;比沙可啉检测质量浓度线性范围为0.25~5.0 mg/ml($r=0.9999$);比沙可啉以及杂质A、B、C、D、E的检测限和定量限分别为19~25 ng和61~68 ng;精密性、稳定性、重复性试验的RSD<2%;比沙可啉回收率为99.50%~101.00%,RSD=0.5%($n=9$)。结论:该方法专属性强、灵敏度高、重复性好,可用于比沙可啉原料药和肠溶片剂中有关物质的测定。

关键词 高效液相色谱法;比沙可啉;原料药;肠溶片;有关物质

Study on the Determination Method for Related Substances in Bisacodyl Raw Material and Enteric-coated Tablet

ZHANG Xiru, SUN Ting, GUO Yonghui, LIU Hongli, HE Xiaojun, MIAO Huijuan, GE Cheng (Hebei Institute for Drug Control, Shijiazhuang 050011, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the determination of related substances in bisacodyl raw material and enteric-coated tablet. METHODS: HPLC was performed on the column of Hibar C₁₈ with mobile phase of acetonitrile -20 mmol/L ammonium acetate (acetic acid adjust pH to 5.0) (55:45, V/V), detection wavelength was 265 nm, flow rate was 1.0 ml/min, column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 20 μl. RESULTS: The linear range of bisacodyl was 0.25-5.0 mg/ml ($r=0.9999$); the limits of detection and quantification were 19-25 ng and 61-68 ng for bisacodyl and impurity A, B, C, D and E; RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%; recovery was 99.50%-101.00% (RSD=0.5%, $n=9$). CONCLUSIONS: The method is specific, sensitive and reproducible, and can be used for the determination of related substance in bisacodyl raw material and enteric-coated tablet.

KEYWORDS HPLC; Bisacodyl; Raw material; Enteric-coated tablet; Related substances

比沙可啉(Bisacodyl)是由德国勃林格殷格翰(Boehringer-Ingelheim)集团开发的通便剂^[1],临床上主要通过其肠黏膜直接接触刺激其感觉神经末梢而增强肠反射性蠕动,导致排便。比沙可啉制剂类型主要有肠溶片剂和栓剂,其肠溶片剂优点是当其到达特定部位结肠时,药物自片中释出,直接作用于结肠,而无继发性腹泻作用^[2]。其所执行的标准收载于《中国药典》2015年版(二部),该标准中采用薄层色谱法(TLC)检查其有关物质^[3]。目前,国内关于比沙可啉原料药和肠溶片中有关物质的测定方法的报道尚少,流动相系统有采用乙腈-水的^[4-5],也有采用甲醇-水-冰乙酸的^[6],但均具有一定的局限性,即检出的杂质不够全面。为此,本研究参照相关文献^[7-9],建立了采用高效液相色谱法(HPLC)测定比沙可啉原料药和肠溶片中有关物质的方法,能够检出更多的已知杂质,且分离度良好,可为更全面地控制其质量提供参考。

1 材料

1.1 仪器

1260型HPLC仪,包括G1311C四元泵、G1329B自动进样器、G1316A柱温箱、G1314紫外可变波长检测器和EZChrom色谱工作站等(美国Agilent公司);XS105型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司);KQ5200DE型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

比沙可啉对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100181-200402,纯度:100%,105 ℃干燥2 h后使用);杂质A、杂质E对照品(加拿大TRC公司,批号:2-MMH-159-2、4-BLL-167-1,纯度均为100%);杂质B、杂质C、杂质D对照品(加拿大TLC公司,批号:1686-061A5、1722-017A5、1735-043A1,纯度均为100%);比沙可啉原料药(A公司,批号:

[6] 叶超,刘芳,陈宝龙,等.高效液相色谱法测定广藿香中毛蕊花糖苷的含量[J].中南药学,2014,12(12):1 248.

[7] 赵群涛,张红伟,方永凯,等.HPLC法同时测定芪黄疏糖胶囊中梓醇和毛蕊花糖苷的含量[J].中华中医药学刊,2014,32(5):1 200.

[8] 陈天朝,翟来超.HPLC同时测定地黄中梓醇与毛蕊花糖

苷的含量[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(5):105.

[9] 许永,赵成.HPLC法同时测定养血安神片中梓醇与毛蕊花糖苷的含量[J].安徽医药,2014,18(10):1 859.

[10] 李文斌.HPLC法测定麦味地黄丸中毛蕊花糖苷的含量[J].中国药房,2014,25(28):2 665.

(收稿日期:2016-01-16 修回日期:2016-04-13)

(编辑:刘 柳)

* 主任药师。研究方向:药物分析。电话:0311-85212009。
E-mail:122547652@qq.com