

痛块消口服液的质量标准研究[△]

梁莹莹*,张淑君,赫军,张丹,刘晓,王晓星,马秉智[#](中日友好医院药学部,北京 100029)

中图分类号 R284.1;R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)03-0374-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.03.24

摘要 目的:建立痛块消口服液的质量标准。方法:采用薄层色谱法(TLC)对制剂中夏枯草、拳参进行定性鉴别;采用高效液相色谱法测定制剂中吗啡的含量;色谱柱为Kromsail C₁₈,流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液(15:85, V/V)(每100 mL加庚烷磺酸钠0.1 g),流速为1.0 mL/min,检测波长为220 nm,柱温为25 ℃,进样量为10 μL。结果:夏枯草、拳参的TLC图斑点清晰,分离度好,阴性对照无干扰。吗啡检测质量浓度线性范围为15.13~242.08 μg/mL($r=0.999\ 9$);精密性、重复性、稳定性试验的RSD<2.0%;加样回收率为97.80%~102.10%(RSD=1.57%, $n=6$)。结论:该研究所建标准可用于痛块消口服液的质量控制。

关键词 痛块消口服液;薄层色谱法;高效液相色谱法;质量标准;吗啡

Study on the Quality Standard for Tongkuaixiao Oral Liquid

LIANG Yingying, ZHANG Shujun, HE Jun, ZHANG Dan, LIU Xiao, WANG Xiaoxing, MA Bingzhi (Dept. of Pharmacy, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard for Tongkuaixiao oral liquid. METHODS: TLC was used for the qualitative identification of *Prunella vulgaris* and *Polygonum bistorta* in the preparation; HPLC was used for the content determination of morphine: the column was Kromsail C₁₈ with mobile phase of acetonitrile-0.1% phosphoric acid (15:85, V/V) (each 100 mL added sodium heptanesulfonate 0.1 g) at a flow rate of 1.0 mL/min, detection wavelength was 220 nm, column temperature was 25 ℃, and injection volume was 10 μL. RESULTS: The TLC spots of *P. vulgaris* and *P. bistorta* were clear and well-separated, negative control without interference. The linear range of morphine was 15.13-242.08 μg/mL ($r=0.999\ 9$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2.0%; recovery was 97.80%-102.10% (RSD=1.57%, $n=6$). CONCLUSIONS: The establish standard can be used for the quality control of Tongkuaixiao oral liquid.

KEYWORDS Tongkuaixiao oral liquid; TLC; HPLC; Quality standard; Morphine

痛块消口服液系我院院内制剂,由夏枯草、拳参、罂粟壳等多味中药材组成,在肿瘤科应用多年,具有理气活血、散结止痛之功效^[1]。其中,夏枯草为君药,具有清火明目、散结消肿之功效;拳参为臣药,具有清热解毒、消肿止痛之功效。根据《医疗机构制剂注册管理办法》^[2]相关要求,本着确保医院制剂质量的原则,笔者采用薄层色谱法(TLC)对痛块消口服液中夏枯草、拳参进行定性鉴别;又因罂粟壳作为制剂的重要组分,具有成瘾性,必须对其含量进行控制,故选取其主要成分吗啡作为指标成分,采用高效液相色谱法(HPLC)对其进行含量测定,以制定含量限度,确保用药安全。

1 材料

1.1 仪器

1260型HPLC仪,包括G-1322C型在线真空脱气

[△]基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81402942);中日友好医院青年英才计划项目(No.2015-QNYC-B-05);中日友好医院科研基金项目(No.2014-1-QN-2)

* 中药师。研究方向:药品检验。E-mail: koma19620610@163.com

[#] 通信作者:副主任药师,硕士。研究方向:中药质量控制。电话:010-84205428。E-mail: mbz20052002@aliyun.com

机、G-1311C型高压四元泵、G4212B DAD二极管阵列检测器、Chemstation色谱工作站(美国Agilent公司);CPA225D型十万分之一电子分析天平、BSA423S-CW型千分之一电子分析天平(德国Sartorius公司);KQ-300DE型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率:300 W,频率:40 kHz)。

1.2 药品与试剂

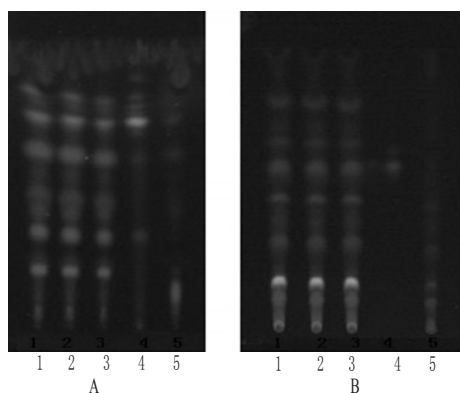
痛块消口服液(中日友好医院中药制剂室自制,批号:20150123、20150205、20150219,规格:10 mL/支);绿原酸对照品(批号:110753-200413,纯度:>98%)、吗啡对照品(批号:171201-201324,纯度:99.1%)、夏枯草对照药材(批号:120993-200604)均购自中国食品药品检定研究院;硅胶G薄层板(青岛海洋化工厂分厂);聚酰胺薄层板(浙江台州市路桥四甲生化塑料厂);乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别

2.1.1 夏枯草 取样品30 mL,用乙酸乙酯振摇提取2次,每次30 mL,合并乙酸乙酯溶液,蒸干,残渣加乙酸乙酯2 mL使溶解,作为供试品溶液。另取夏枯草对照药

材 2.5 g, 加 70% 乙醇 30 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加乙醇 5 mL 使溶解, 作为对照药材溶液。按痛块消口服液处方和工艺制备缺夏枯草的阴性样品, 并按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按 TLC 法[2015 年版《中国药典》(四部)]^[9] 试验, 吸取上述 3 种溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以环己烷-乙酸乙酯-异丙醇-甲醇(15:3:3.5:0.5, V/V/V/V) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365 nm) 下检视。结果, 供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应位置上显相同颜色的斑点, 阴性对照无干扰, 详见图 1。



A. 夏枯草; B. 拳参; 1~3. 供试品; 4. 对照品; 5. 阴性对照

A. *Prunella vulgaris*; B. *Polygonum bistorta*; 1-3. test samples; 4. reference substance; 5. negative control

图 1 薄层色谱图

Fig 1 TLC chromatograms

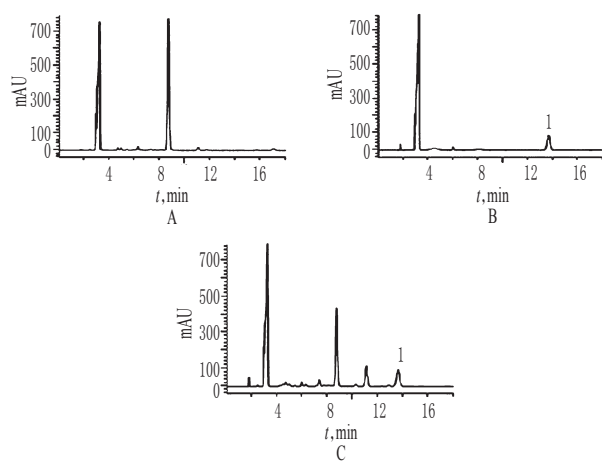
2.1.2 拳参 取样品 20 mL, 加水饱和的正丁醇提取 2 次, 每次 20 mL, 合并正丁醇层, 蒸干, 残渣加乙醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取绿原酸对照品适量, 加乙醇制成绿原酸质量浓度为 0.5 mg/mL 的对照品溶液。按痛块消口服液处方和工艺制备缺拳参的阴性样品, 并按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按 TLC 法[2015 年版《中国药典》(四部)]^[9] 试验, 吸取上述 3 种溶液各 2 μ L, 分别点于同一聚酰胺薄层板上, 以醋酸为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365 nm) 下检视。结果, 供试品色谱中, 在与对照品色谱相应位置上显相同颜色的斑点, 阴性对照无干扰, 详见图 1。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件^[4]与系统适用性试验 色谱柱: Kromsail C₁₈ (250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈-0.1% 磷酸溶液(15:85, V/V)(每 100 mL 加庚烷磺酸钠 0.1 g); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 220 nm; 柱温: 25 $^{\circ}$ C; 进样量: 10 μ L。在上述色谱条件下, 理论板数以吗啡峰计 > 10 000; 吗啡的保留时间为 13.5 min, 组分分离良好, 分离度 > 1.5, 且其他成分无干扰, 详见图 2。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取 15.13 mg 吗啡对照品, 置于 50 mL 量瓶中, 加 20% 甲醇溶液(含 5% 醋酸) 溶解并定容, 摇匀, 即得。

2.2.3 供试品溶液的制备 精密量取样品 20 mL, 置于 150 mL 分液漏斗中, 加氨试液 20 mL, 摇匀, 以三氯甲



A. 阴性对照; B. 对照品; C. 供试品; 1. 吗啡

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

图 2 高效液相色谱图

Fig 2 HPLC chromatograms

烷-异丙醇溶液(9:1, V/V) 振摇提取 5 次, 每次 40 mL, 合并提取液, 蒸干, 残渣以 20% 甲醇溶液(含 5% 醋酸) 溶解并定容至 5 mL, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.4 阴性对照溶液的制备 按痛块消口服液处方和工艺制备缺罂粟壳的阴性样品, 并按“2.2.3”项下方法制成阴性对照溶液。

2.2.5 线性关系考察 精密量取“2.2.2”项下对照品溶液 0.5、1、2、4、8 mL, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加 20% 甲醇溶液(含 5% 醋酸) 定容, 制成系列对照品溶液。精密量取上述系列对照品溶液各 10 μ L, 按“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。以吗啡质量浓度(x, μ g/mL) 为横坐标、峰面积(y) 为纵坐标进行线性回归, 得吗啡回归方程为 $y = 26.769 6x - 46.791 7$ ($r = 0.999 9$)。结果表明, 吗啡检测质量浓度线性范围为 15.13~242.08 μ g/mL。

2.2.6 精密度试验 取“2.2.2”项下对照品溶液适量, 按“2.2.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次, 记录峰面积。结果, 吗啡峰面积的 RSD = 0.67% ($n = 6$), 表明仪器精密度良好。

2.2.7 稳定性试验 取“2.2.3”项下供试品溶液(批号: 20150123) 适量, 分别于室温下放置 0、2、4、6、8、10、12 h 时按“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。结果, 吗啡峰面积的 RSD = 1.18% ($n = 7$), 表明供试品溶液在室温放置 12 h 内基本稳定。

2.2.8 重复性试验 精密称取同一批样品(批号: 20150123) 适量, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 共 6 份, 再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定, 记录峰面积并计算含量。结果, 吗啡平均含量为 0.015 5 mg/mL, RSD = 0.06% ($n = 6$), 表明本方法重复性良好。

2.2.9 加样回收率试验 取已知含量样品(批号: 20150123) 适量, 共 6 份, 每份 20 mL, 分别加入一定质量的吗啡对照品, 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, 记录峰面积并计算加

阿胶三宝膏的质量标准提高研究^Δ

焦 阳*,汪 冰,林永强,徐丽华(山东省食品药品检验研究院,济南 250101)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)03-0376-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.03.25

摘要 目的:提高阿胶三宝膏的质量标准。方法:采用超高效液相色谱-质谱联用法(UPLC-MS)鉴别制剂中的阿胶;色谱柱为Acquity UPLC BEH-C₁₈,流动相为乙腈-0.1%甲酸溶液(梯度洗脱),流速为0.3 mL/min,进样量为5 μL,离子源为电喷雾离子源,毛细管电压为3.5 kV,毛细管出口电压为120 V,锥孔电压为50 V,脱溶剂温度为400 ℃,干燥气流速为10 L/min,雾化器压为40 psi,碰撞能量为10~45 V,扫描范围 *m/z* 200~1 500,检测方式为正离子模式(ESI+),多反应监测(MRM);采用高效液相色谱法测定制剂中4种水解氨基酸的含量;色谱柱为Agela Venusil XBP-C₁₈,流动相A为乙腈-0.1 mol/L 乙酸钠溶液(36%乙酸调pH至6.5)(7:93, V/V),流动相B为80%乙腈溶液(梯度洗脱),流速为1.0 mL/min,检测波长为254 nm,柱温为43 ℃。结果:阿胶的UPLC-MS图峰形清晰,专属性强,阴性无干扰。*L*-羟脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸、*L*-脯氨酸检测进样量线性范围分别为0.081 9~0.655 2 μg(*r*=0.999 9)、0.186 2~1.489 6 μg(*r*=0.999 8)、0.070 3~0.562 0 μg(*r*=0.999 9)、0.124 2~0.993 6 μg(*r*=0.999 9);精密密度、稳定性、重复性试验的RSD<2.0%;加样回收率分别为99.85%~103.69%(RSD=1.35%,*n*=6)、99.91%~103.93%(RSD=1.46%,*n*=6)、96.86%~101.27%(RSD=1.69%,*n*=6)、97.44%~101.45%(RSD=1.54%,*n*=6)。结论:提高的标准能更加有效地控制阿胶三宝膏的质量。

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)

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,%
0.309 8	0.299 9	0.603 1	97.80		
0.309 8	0.299 9	0.616 0	102.10		
0.309 8	0.299 9	0.609 2	99.83	99.68	1.57
0.309 8	0.299 9	0.606 8	99.03		
0.309 8	0.299 9	0.612 0	100.77		
0.309 8	0.299 9	0.605 4	98.57		

2.2.10 样品含量测定 取3批样品各适量,分别按“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,记录峰面积并计算样品含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果(*n*=3,mg/mL)

Tab 2 Results of content determination of samples(*n*=3,mg/mL)

样品批号	吗啡含量	平均含量
20150123	0.015 5	
20150205	0.019 1	0.014 5
20150219	0.010 2	

3 讨论

预试验中,笔者首先考虑以萃取方法提取,其中夏枯草以乙酸乙酯萃取,拳参以正丁醇萃取;笔者根据文献[4]及实际操作,考虑到展开剂毒性问题,选取环己烷-乙酸乙酯-异丙醇-甲醇(15:3:3.5:0.5, V/V/V/V)作为夏枯草鉴别的展开剂,置紫外光灯(365 nm)下检视;选取醋酸为拳参鉴别的展开剂,置紫外光灯(365 nm)下检

视,结果显示,夏枯草和拳参斑点清晰,分离度好,阴性对照无干扰。

本试验首次将痛块消口服液中毒性药材罂粟壳中吗啡的含量纳入其质量控制项中,经紫外光谱扫描发现,吗啡的最大吸收在220 nm波长处,与文献^[5]报道一致,故选用220 nm为检测波长;笔者考察了3种溶剂,分别以甲醇、70%甲醇、含5%醋酸的20%甲醇溶液溶解吗啡^[6],结果表明,以含5%醋酸的20%甲醇溶液作为溶剂时对照品峰形良好,基线平稳,故选取其为溶剂;另外,痛块消口服液为复方制剂,提取方法为水提,吗啡在水中的溶解度较小,且水提后痛块消口服液中其他组分对吗啡的干扰较大,故笔者参照文献[5],优先考察了烘干后甲醇提取、三氯甲烷-异丙醇(9:1, V/V)萃取2种方法,结果表明,三氯甲烷-异丙醇(9:1, V/V)萃取能有效地去除杂质,排除干扰,对吗啡的提取率高,重现性好,便于医院制剂的常规检测。

综上所述,本研究所建标准可用于痛块消口服液的质量控制。

参考文献

- [1] 刘猛,贾立群.痛块消口服液治疗乳腺癌家族史合并重度乳腺增生1例[J].医学信息,2014,27(7):632-633.
- [2] 国家食品药品监督管理局.医疗机构制剂注册管理办法:试行[S].2006-06-01.
- [3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:57.
- [4] 陈蔚琳,漏德宝.畅声口服液质量标准研究[J].中国药房,2008,19(12):933-935.
- [5] 何禄仁,宋平顺.高效液相色谱法测定蜜炙罂粟壳及种子中吗啡含量[J].中国药业,2007,16(21):25-27.

(收稿日期:2016-04-15 修回日期:2016-07-24)

(编辑:张 静)

^Δ 基金项目:国家科技重大专项课题(No.2014ZX09304307-002-002);山东省自然科学基金资助项目(No.ZR2013HM074)

* 药师。研究方向:药物分析。电话:0531-81216522。E-mail: jiaoyang579@hotmail.com