

复方独正片的质量标准研究

漆立军*,黄华斌,覃鸿恩[#](湖北恩施土家族苗族自治州中心医院药学部,湖北恩施 445000)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)15-2124-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.15.30

摘要 目的:建立复方独正片的质量标准。方法:采用薄层色谱法(TLC)对制剂中独正杆、刺老芭、刺五加、三七进行定性鉴别;采用高效液相色谱法测定制剂中紫丁香苷、齐墩果酸、人参皂苷R_{g1}、人参皂苷R_{b1}、三七皂苷R₁的含量;色谱柱为Inertsil ODS-SP C₁₈,流动相为乙腈-水(梯度洗脱),流速为1.0 mL/min,检测波长为215 nm,柱温为25 ℃,进样量为10 μL。结果:独正杆、刺老芭、刺五加、三七的TLC斑点清晰,分离度好,阴性对照无干扰。紫丁香苷、齐墩果酸、人参皂苷R_{g1}、人参皂苷R_{b1}、三七皂苷R₁检测进样量线性范围分别为0.056~0.337 μg($r=0.999\ 8$)、0.022~0.130 μg($r=0.999\ 9$)、0.030~0.182 μg($r=0.999\ 5$)、0.010~0.061 μg($r=0.999\ 8$)、0.038~0.226 μg($r=0.999\ 9$);精密度、稳定性、重复性试验的RSD<3.0%;加样回收率分别为100.55%~103.80%(RSD=2.0%, $n=9$)、100.00%~104.56%(RSD=3.0%, $n=9$)、97.06%~102.94%(RSD=2.1%, $n=9$)、97.06%~102.94%(RSD=2.0%, $n=9$)、96.67%~100.00%(RSD=1.5%, $n=9$)。结论:该研究所建标准可用于复方独正片的质量控制。

关键词 复方独正片;质量标准;薄层色谱法;高效液相色谱法

Study on Quality Standard of Compound Duzheng Tablets

QI Lijun, HUANG Huabin, QIN Hong'en (Dept. of Pharmacy, Hubei Enshi Tujia and Miao Autonomous Prefecture Central Hospital, Hubei Enshi 445000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard of Compound duzheng tablets. METHODS: TLC method was used for qualitative identification of *Vitis davidii*, *Aralia chinensis*, *Acanthopanax senticosus* and *Panax notoginseng* in the preparation. The contents of syringoside, oleanolic acid, ginsenoside R_{g1}, ginsenoside R_{b1} and notoginsenoside R₁ were determined by HPLC. The determination was performed on Inertsil ODS-SP C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-water (gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was set at 215 nm, and the column temperature was 25 ℃. The sample size was 10 μL. RESULTS: TLC spots of *V. davidii*, *A. chinensis*, *A. senticosus* and *P. notoginseng* were clear and well-separated without interference from negative control. The linear ranges of syringoside, oleanolic acid, ginsenoside R_{g1}, ginsenoside R_{b1} and notoginsenoside R₁ were 0.056-0.337 μg($r=0.999\ 8$), 0.022-0.130 μg($r=0.999\ 9$), 0.030-0.182 μg($r=0.999\ 5$), 0.010-0.061 μg($r=0.999\ 8$), 0.038-0.226 μg($r=0.999\ 9$), respectively. RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 3.0%. The recoveries were 100.55%-103.80% (RSD=2.0%, $n=9$), 100.00%-104.56% (RSD=3.0%, $n=9$), 97.06%-102.94% (RSD=2.1%, $n=9$), 97.06%-102.94% (RSD=2.0%, $n=9$), 96.67%-100.00% (RSD=1.5%, $n=9$). CONCLUSIONS: Established standard can be used for the quality control of Compound duzheng tablets.

KEYWORDS Compound duzheng tablets; Quality standard; TLC; HPLC

复方独正片源自我院名医堂名老中医的经验方,是由我院制剂室自主研制的中药复方制剂。该方由土家族民族药独正杆、刺老芭、刺五加和三七等组成,具有活血化瘀、消肿止痛、续筋接骨、补益肝肾等功效,主要用于各类软组织损伤、骨折、风湿痹症及颈肩腰腿疼痛等症的治疗,其作用显著、疗效确切,且在我院相关专科使用广泛,作为我院产业化拳头产品之一,给医院带来了巨大的经济及社会效益^[1]。但是,目前尚无准确控制该制剂内在质量的方法,亦尚未见其相关质量标准研究文献报道^[2-4]。因此,笔者拟建立复方独正片的质量标准,以期为其临床用药安全提供理论依据。

1 材料

1.1 仪器

*副主任药师。研究方向:医院制剂。E-mail:58659685@qq.com

#通信作者:副主任药师。研究方向:中药制剂现代化。E-mail:1137511834@qq.com

LC20A型高效液相色谱(HPLC)仪,包括LC-20AD四元泵、SPD-M20A检测器、SIL-20A进样器(日本Shimadzu公司);YOKO-2X型紫外线分析仪(武汉药科新技术开发公司);KQ-500VDE型双频数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率:500 W,频率:100 kHz);CPA225D型电子天平(德国Sartorius公司);HHS-2S型电子恒温不锈钢水浴锅(上海宝蓝实验仪器制造有限公司)。

1.2 药品与试剂

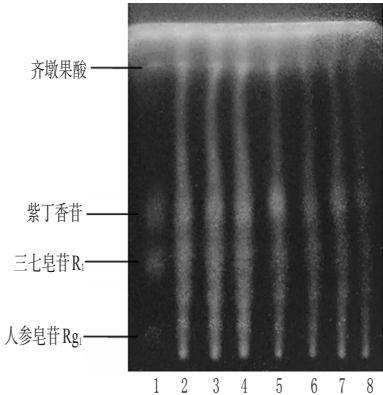
复方独正片(恩施州中心医院制剂室自制,批号:2015044、2016004、2016109,规格:0.5 g/片);齐墩果酸对照品(批号:110709-201206,纯度:94.9%)、紫丁香苷对照品(批号:111574-200603,纯度:99.7%)、人参皂苷R_{b1}对照品(批号:140806-201509,纯度:96.3%)、人参皂苷R_{g1}对照品(批号:110703-201424,纯度:100%)、三七皂苷R₁对照品(批号:140534-201436,纯度:98.0%)均购自

中国食品药品检定研究院;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

取样品细粉1 g,加甲醇50 mL,超声提取30 min,滤过,蒸干,残渣加甲醇1 mL使溶解,制成供试品溶液。分别取待测成分对照品适量,加甲醇制成紫丁香苷、齐墩果酸、人参皂苷R_g₁、人参皂苷R_b₁和三七皂苷R₁质量浓度分别为0.3、0.2、0.2、0.4、0.1 mg/mL的混合对照品溶液。按复方独正片处方和工艺分别制备缺独正杆、刺老苞、刺五加、三七的单一阴性样品,并按供试品溶液制备方法制成单一阴性对照溶液。按薄层色谱法[2015年版《中国药典》(四部)]^[6]试验,吸取上述3种溶液各5 μL,分别点于同一硅胶G薄层板上,以丙酮-三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(5:4:2:3:0.4, V/V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,105 ℃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。



1.混合对照品;2~4.供试品;5.缺独正杆的阴性对照;6.缺刺老苞的阴性对照;7.缺刺五加的阴性对照;8.缺三七的阴性对照
1.mixed control; 2-4.test samples; 5.negative control without *Ampelopsis davidii*; 6.negative control without *Aralia chinensis*; 7.negative control without *Acanthopanax senticosus*; 8.negative control without *Panax notoginseng*

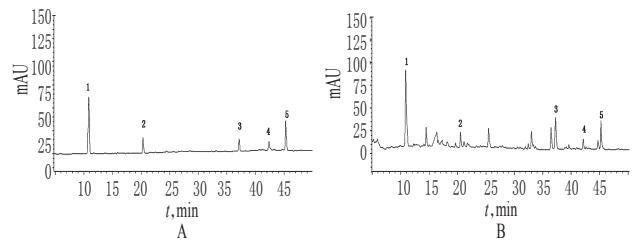
图1 薄层色谱图

Fig 1 TLC chromatograms

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱:Inertsil ODS-SP C₁₈(250 nm×4.6 nm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-水(B),梯度洗脱(0~15 min, 80%→60% A; 15~25 min, 60%→40% A; 25~30 min, 40%→20% A; 30~50 min, 20%→10% A);流速:1.0 mL/min;检测波长:215 nm;柱温:25 ℃;进样量:10 μL。按上述色谱条件进样测定,记录色谱,详见图2。结果,理论板数以紫丁香苷、齐墩果酸、人参皂苷R_g₁、人参皂苷R_b₁和三七皂苷R₁峰计均>3 000;各成分基线分离良好,分离度>1.5。

2.2.2 混合对照品溶液的制备 精密称取待测成分对



A.混合对照品;B.供试品;1.紫丁香苷;2.齐墩果酸;3.人参皂苷R_g₁;4.人参皂苷R_b₁;5.三七皂苷R₁
A.mixed control; B.sample; 1.syringin; 2.oleanolic acid; 3.notoginsenoside R_g₁; 4.notoginsenoside R_b₁; 5.notoginsenoside R₁

图2 高效液相色谱图

Fig 2 HPLC chromatograms

照品各适量,加甲醇制成紫丁香苷、齐墩果酸、人参皂苷R_g₁、人参皂苷R_b₁和三七皂苷R₁质量浓度分别为0.028 1、0.010 8、0.015 2、0.005 1、0.018 8 mg/mL的混合对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取样品细粉约1 g,精密称定,置于50 mL具塞锥形瓶中,精密加甲醇50 mL,精密称定,超声提取30 min,取出,冷却至室温,精密称定,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,滤过,即得。

2.2.4 线性关系考察 分别精密量取“2.2.2”项下混合对照品溶液2、4、6、8、10、12 μL,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测成分进样量(x, μg)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程与线性范围,详见表1。

表1 回归方程与线性范围

Tab 1 Regression equations and linear ranges

待测成分	回归方程	r	线性范围, μg
紫丁香苷	y=4.22×10 ³ x+4 774.3	0.999 8	0.056~0.337
齐墩果酸	y=4.38×10 ³ x-46.267	0.999 9	0.022~0.130
人参皂苷R _g ₁	y=4.49×10 ³ x-1 245.5	0.999 5	0.030~0.182
人参皂苷R _b ₁	y=4.31×10 ³ x+124.73	0.999 8	0.010~0.061
三七皂苷R ₁	y=4.36×10 ³ x-109.87	0.999 9	0.038~0.226

2.2.5 精密度试验 取“2.2.2”项下混合对照品溶液适量,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,紫丁香苷、齐墩果酸、人参皂苷R_g₁、人参皂苷R_b₁和三七皂苷R₁峰面积的RSD分别为0.4%、1.8%、2.1%、0.8%、1.7%(n=6),表明仪器精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 取“2.2.3”项下供试品溶液(批号:2016004)适量,分别于室温下放置0、2、4、8、12 h时按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,紫丁香苷、齐墩果酸、人参皂苷R_g₁、人参皂苷R_b₁和三七皂苷R₁峰面积的RSD分别为2.4%、1.9%、1.3%、1.0%、2.6%(n=5),表明供试品溶液室温下放置12 h内基本稳定。

2.2.7 重复性试验 精密称取同一批样品(批号:2016004)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。

结果,紫丁香苷、齐墩果酸、人参皂苷 R_{g₁}、人参皂苷 R_{b₁} 和三七皂苷 R₁峰面积的RSD分别为 0.2%、0.6%、1.9%、0.6%、0.4% ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.2.8 加样回收率试验 取已知含量样品(批号:2016004)0.5 g,共6份,分别加入一定质量的待测成分对照品,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样回收率,结果见表2。

表2 加样回收率试验结果($n=9$)
Tab 2 Results of recovery tests($n=9$)

待测成分	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, %
紫丁香苷	0.066	0.053	0.119	100.00	103.70	2.0
	0.066	0.053	0.121	103.77		
	0.066	0.053	0.121	103.77		
	0.066	0.066	0.133	101.52		
	0.066	0.066	0.132	101.06		
	0.066	0.066	0.134	103.03		
	0.066	0.079	0.148	103.80		
	0.066	0.079	0.147	102.53		
	0.066	0.079	0.146	101.27		
齐墩果酸	0.018	0.014	0.032	100.00	102.53	3.0
	0.018	0.014	0.033	103.14		
	0.018	0.014	0.032	100.00		
	0.018	0.018	0.036	100.00		
	0.018	0.018	0.037	104.56		
	0.018	0.018	0.037	104.56		
	0.018	0.022	0.041	104.55		
	0.018	0.022	0.040	100.00		
	0.018	0.022	0.040	100.00		
人参皂苷 R _{g₁}	0.042	0.034	0.075	97.06	100.08	2.1
	0.042	0.034	0.077	102.94		
	0.042	0.034	0.076	100.00		
	0.042	0.042	0.085	102.38		
	0.042	0.042	0.085	102.38		
	0.042	0.042	0.084	100.00		
	0.042	0.050	0.092	100.00		
	0.042	0.050	0.091	98.00		
	0.042	0.050	0.091	98.00		
人参皂苷 R _{b₁}	0.085	0.068	0.153	100.00	100.25	2.0
	0.085	0.068	0.152	98.53		
	0.085	0.068	0.153	100.00		
	0.085	0.085	0.172	102.35		
	0.085	0.085	0.172	102.35		
	0.085	0.085	0.170	100.00		
	0.085	0.102	0.184	97.06		
	0.085	0.102	0.190	102.94		
	0.085	0.102	0.186	99.02		
三七皂苷 R ₁	0.037	0.030	0.066	96.67	98.15	1.5
	0.037	0.030	0.067	100.00		
	0.037	0.030	0.066	96.67		
	0.037	0.037	0.073	97.30		
	0.037	0.037	0.073	97.30		
	0.037	0.037	0.074	100.00		
	0.037	0.044	0.080	97.73		
	0.037	0.044	0.081	100.00		
	0.037	0.044	0.080	97.73		

2.2.9 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3。

表3 样品含量测定结果($n=3$,mg/片)

Tab 3 Results of contents determination of samples ($n=3$,mg/tablet)

样品批号	紫丁香苷	齐墩果酸	人参皂苷 R _{g₁}	人参皂苷 R _{b₁}	三七皂苷 R ₁
2015044	0.633	0.167	0.426	0.086	0.384
2016004	0.647	0.184	0.345	0.077	0.210
2016109	0.609	0.153	0.425	0.092	0.351

3 讨论

3.1 薄层色谱条件的选择

笔者考虑到研究对象为中药复方制剂,成分复杂,选用对照药材分析较为麻烦,且不符合具体指标的评价,故选用对照品作为评价指标;在综合处方分析基础上选择了紫丁香苷、齐墩果酸、人参皂苷 R_{g₁}、人参皂苷 R_{b₁} 和三七皂苷 R₁作为指标。预试验中,笔者分别选用甲醇和乙醇作为供试品溶液制备溶剂进行探究,根据每种待测成分的性质和其单一展开系统情况,总结分析初步拟定5种薄层色谱展开剂系统,分别为环己烷-三氯甲烷-甲醇-水、环己烷-丙酮-三氯甲烷、环己烷-丙酮-三氯甲烷-甲醇、环己烷-丙酮-三氯甲烷-甲醇-乙酸乙酯、丙酮-三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸,依次对以上5种系统进行不同比例的探索,最终确定丙酮-三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(5:4:2:3:0.4, $V/V/V/V/V$)为展开剂。根据不同成分的性质,综合显色条件,分别用稀硫酸溶液和10%硫酸乙醇溶液作为显色剂进行比较,结果确定以10%硫酸乙醇溶液为显色剂。由于齐墩果酸作为苷元存在,是独正杆、刺老苞和三七的共同成分,故在单一阴性样品中也存在齐墩果酸相应的斑点。而人参皂苷 R_{b₁} 显色不明显,且含量过低,因此薄层色谱图中无斑点显现。

3.2 供试品溶液制备方法的选择

待测成分中,所分析的对照品均溶于醇,综合分析,采用正交试验分别对提取溶剂(甲醇、50%甲醇溶液、乙醇)、提取方法(回流、超声、浸置)和提取时间(30、45、65 min)进行考察,最终得出最佳提取方法为:以甲醇50 mL为溶剂,超声提取30 min。

3.3 流动相的选择

预试验中,笔者以单一成分进行进样分析,紫丁香苷的流动相为甲醇-水^[6],齐墩果酸的流动相为乙腈-水^[7],人参皂苷 R_{b₁}、人参皂苷 R_{g₁} 和三七皂苷 R₁的流动相为乙腈-水;后笔者进一步分别用甲醇-水和乙腈-水进行了对比分析,综合各种因素并结合流动相比比例最终选定乙腈-水(梯度洗脱)作为流动相系统。

3.4 检测波长的确定

笔者在190~400 nm波长范围内对供试品溶液进行谱图信息分析,并分别选取203、210、215、225、250、265、280、320 nm波长进行对比考察,结果在210~225 nm波长之间所有待测成分均有明显吸收,综合分析最终确定

RP-HPLC法测定洛索洛芬钠片的含量及有关物质

袁浩宇*,王 鹏,易 红#,俞 瑜(核工业四一六医院,成都 610051)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)15-2127-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.15.31

摘 要 目的:改进测定洛索洛芬钠片中主成分含量及有关物质的方法。方法:采用反相高效液相色谱法。色谱柱为迪马Inspire C₁₈,流动相为乙腈-0.01 mol/L 磷酸二氢钾溶液(含0.2%三乙胺,磷酸调节pH至3.0±0.1)(62:38, V/V),流速为1.0 mL/min,柱温为40 ℃,检测波长为221 nm,进样量为20 μL。结果:洛索洛芬钠峰与相邻杂质峰达到良好分离(分离度>1.5);洛索洛芬钠检测质量浓度线性范围为30.0~90.0 μg/mL($r=0.999\ 8$);洛索洛芬钠检测限为0.3 μg/mL;精密度、稳定性、重复性试验的RSD<1.0%;回收率为99.00%~99.87%,RSD=0.33%($n=9$)。结论:该方法准确、简便、快速,适用于洛索洛芬钠片的质量控制。
关键词 反相高效液相色谱法;洛索洛芬钠片;含量;有关物质

Determination of Contents and Related Substances in Loxoprofen Sodium Tablets by RP-HPLC

YUAN Haoyu, WANG Peng, YI Hong, YU Yu(No. 416 Hospital of Nuclear Industry, Chengdu 610051)

ABSTRACT OBJECTIVE: To improve the determination method for the contents of main components and related substances in Loxoprofen sodium tablets. METHODS: RP-HPLC method was adopted. The determination was performed on Inspire C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.01 mol/L potassium dihydrogen phosphate (containing 0.2% triethylamine, phosphoric acid adjusted to 3.0±0.1, 62:38, V/V) at the flow rate of 1.0 mL/min. The column temperature was 40 ℃, and the detection wavelength was set at 221 nm. The sample size was 20 μL. RESULTS: The peak of loxoprofen sodium was well separated with the peak of its related substances ($R>1.5$). The linear range of loxoprofen sodium ranged 30.0-90.0 μg/mL ($r=0.999\ 8$). The detection limit of loxoprofen was 0.3 μg/mL. RSDs of precision, stability and repeatability tests were <1.0%. The average recovery rates ranged 99.00%-99.87% (RSD=0.33%, $n=9$). CONCLUSIONS: This method is accurate, simple, rapid and suitable for the quality control of Loxoprofen sodium tablets.
KEYWORDS RP-HPLC; Loxoprofen sodium tablets; Content; Related substances

洛索洛芬钠(Loxoprofen sodium),化学名为2-[4-(2-氧代环戊烷-1-基甲基)苯基]丙酸钠二水合物,为前

列腺素(PG)合成酶抑制剂,具有解热、镇痛及抗炎作用,临床上广泛用于类风湿性关节炎,腰痛,肩周炎,颈肩腕

以215 nm作为检测波长。

3.5 色谱仪和色谱柱的选择

本试验选择了Agilent 1260和Shimadzu LC20A两种不同品牌的HPLC仪,分别采用Inertsil ODS-SP C₁₈、Ameritech C₁₈、Accurasil C₁₈ 3种不同色谱柱进行分析,以最简单、有效的保留时间差法进行计算。结果显示,以Shimadzu LC20A HPLC仪、Inertsil ODS-SP C₁₈色谱柱进行洗脱分析,采用保留时间差法计算可准确定位目标色谱峰。

综上所述,本研究所建标准可用于复方独正片的质量控制。

参考文献

[1] 刁京明,陈龙全,周庆华,等.复方独正片治疗骨折延迟愈合39例[J].湖北民族学院学报,2005,22(4):54-56.

- [2] 漆立军.民族药复方独正片的研制及处方分析[J].中国民族医药杂志,2012,19(5):39-40.
- [3] 郝双阶,潘墩,黄琼.复方独正杆接骨汤对肱骨干闭合性骨折愈合过程中IL-1、IL-6、TNF-α的影响[J].中国药房,2015,26(17):2378-2380.
- [4] 裴凌鹏,尹霞,李莉,等.刺老苞根皮黄酮类化合物对维甲酸致大鼠骨质疏松的影响[J].中草药,2011,42(11):2279-2282.
- [5] 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.
- [6] 韩梅,王丽娟,郭双双,等.不同种群结构刺五加根和茎中紫丁香苷的含量[J].吉林农业大学学报,2016,38(4):434-438.
- [7] 张思波,甚晖,杨久云,等.HPLC法测定土家药独正岗中齐墩果酸的含量[J].中国民族医药杂志,2010,17(4):42-43.

* 副主任药师,硕士。研究方向:医院药学。E-mail: yhy416@126.com

通信作者:副主任药师。研究方向:医院药学。E-mail: yihong0517@163.com

(收稿日期:2017-02-10 修回日期:2017-03-22)
(编辑:张 静)