

HPLC法测定利心丸中毛蕊花糖苷的含量

于士婷^{1*},赵大庆¹,李修刚²,白雪媛^{1#},赵雨¹(1.长春中医药大学药学院,长春 130117;2.长春市修和商贸有限公司,长春 130000)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)33-4728-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.33.40

摘要 目的:建立测定利心丸中毛蕊花糖苷含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为ZORBAX SB-Aq,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0.254 4~1.526 4 μg($r=0.999 7$);定量限为1.358 6 μg/ml,检测限为0.407 6 μg/ml;精密性、稳定性、重复性试验的RSD<2%;加样回收率为95.06%~97.31%(RSD=1.05%, $n=6$)。结论:该方法操作简便、结果准确,适用于测定利心丸中毛蕊花糖苷的含量。

关键词 利心丸;毛蕊花糖苷;高效液相色谱法;含量测定

Content Determination of Verbasicoside in Lixin Pill by HPLC

YU Shiting¹, ZHAO Daqing¹, LI Xiugang², BAI Xueyuan¹, ZHAO Yu¹(1.School of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China; 2.Changchun Xiuhe Trading Company, Changchun 130000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of verbasicoside in Lixin pill. METHODS: HPLC was performed on the column of ZORBAX SB-Aq with mobile phase of acetonitrile-1% phosphoric acid solution (16:84, V/V) at a flow rate of 1.0 ml/min, detection wavelength was 334 nm, column temperature was 30℃, and injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear range of verbasicoside was 0.254 4-1.526 4 μg($r=0.999 7$); limit of quantification was 1.358 6 μg/ml, and limit of detection was 0.407 6 μg/ml; RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%; recovery was 95.06%-97.31% (RSD=1.05%, $n=6$). CONCLUSIONS: The method is simple, accurate, and suitable for the content determination of verbasicoside in Lixin pill.

KEYWORDS Lixin pill; Verbasicoside; HPLC; Content determination

利心丸由貂心、茯苓、地黄、天冬、防己、牡丹皮、琥珀和朱砂等8味中药材组成,具有补心安神的功效,可用于治疗风湿性心脏病、心动过速、心律不齐、心力衰竭等心血不足之证者。毛蕊花糖苷是利心丸原料地黄中的主要有效成分,具有保护神经、降血糖等作用^[1]。

利心丸收载于《中华人民共和国卫生部药品标准:中药成方制剂》(第8册)(WS3-B-1546-93)^[2],该标准关于利心丸的质量控制过于简单,主要采用显微和紫外分光光度法进行鉴别,而目前的相关文献主要集中在丹皮酚的含量测定及对地黄、防己和牡丹皮的薄层色谱定性鉴别^[3-6],且没有对毛蕊花糖苷的含量测定报道。因此,笔者采用高效液相色谱法(HPLC)建立了测定利心丸中毛蕊花糖苷含量的方法,以期完善利心丸的质量标准提供参考。

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);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

利心丸(吉林特研药业有限公司,批号:20141201、20141202、20141203、20141204、20141205,规格:3 g/袋);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,其余试剂均为分析纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:ZORBAX SB-Aq(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 精密量取毛蕊花糖苷对照品4.24 mg,置于50 ml量瓶中,加甲醇制成每1 ml含毛蕊花糖苷84.8 μg的对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取样品适量,粉碎成细粉,取约6.0 g,精密称定,置于250 ml锥形瓶中,精密加入甲醇50 ml,加热回流提取1.5 h,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣用流动相溶解,转移至10 ml量瓶中,并用流动相定容,摇匀,经0.45 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性对照溶液 取不含地黄的其余药材,按样品的制备工艺和处方比例制备缺地黄的阴性样品,再按“2.2.2”项下方法制备阴性对照溶液。

* 硕士研究生。研究方向:中药有效成分及产品开发。E-mail: 470687557@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

2.3 系统适用性试验

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适量,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图1。由图1可知,在该色谱条件下,各成分均能达到基线分离,分离度 >1.5 ;理论板数以毛蕊花糖苷峰计 >4000 ,保留时间为15.954 min。结果表明,其他成分对测定无干扰。

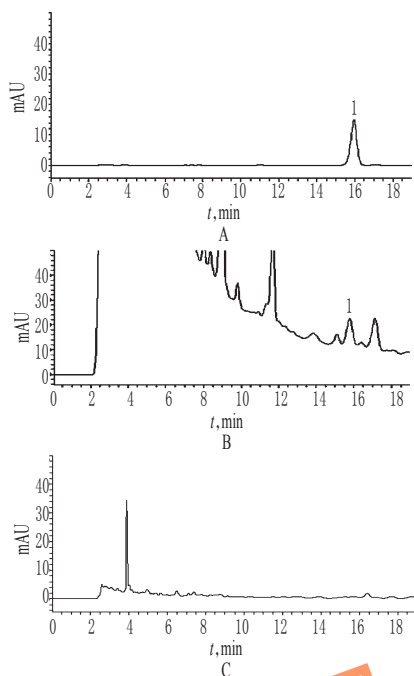


图1 高效液相色谱图

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.verbascoide

2.4 线性关系考察

精密量取“2.2.1”项下对照品溶液3、6、9、12、15、18 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 $y=361.1x+6.4$ ($r=0.9997$)。结果表明,毛蕊花糖苷检测进样量线性范围为0.254 4~1.526 4 μg 。

2.5 定量限与检测限考察

取“2.2.1”项下对照品溶液适量,等倍逐步稀释,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。当信噪比为10:1时,得定量限为1.358 6 $\mu\text{g/ml}$;当信噪比为3:1时,得检测限为0.407 6 $\mu\text{g/ml}$ 。

2.6 精密度试验

精密量取“2.2.1”项下对照品溶液10 μl ,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 $\text{RSD}=1.66\%$ ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:20141201)适量,分别于室温下放置0、1、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 $\text{RSD}=1.50\%$ ($n=6$),表明供试品溶液在室温下8 h内稳定性良好。

2.8 重复性试验

取同一批样品(批号:20141201)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积并计算平均含量。结果,毛蕊花糖苷的平均含量

为54.7 $\mu\text{g/g}$, $\text{RSD}=1.98\%$ ($n=6$),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)适量,约6.0 g,精密称定,共6份,置于250 ml锥形瓶中,加入一定质量的毛蕊花糖苷对照品,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,%
6.000 2	0.328 2	0.320 0	0.638 5	96.97		
6.013 0	0.334 5	0.320 0	0.639 0	95.16		
5.999 6	0.327 6	0.320 0	0.639 0	97.31	95.86	1.05
6.002 5	0.332 0	0.320 0	0.636 2	95.06		
6.011 6	0.325 4	0.320 0	0.630 8	95.44		
5.998 4	0.319 8	0.320 0	0.624 5	95.22		

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,记录峰面积并计算样品含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果($n=3$)

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

样品批号	含量, $\mu\text{g/g}$	平均含量, $\mu\text{g/g}$	RSD,%
20141201	54.70		
20141202	56.80		
20141203	54.10	55.20	2.42
20141204	56.74		
20141205	53.90		

3 讨论

3.1 提取方法和提取溶剂的选择

笔者参考相关文献^[7-10]考察了不同提取方式(回流提取、超声提取和索氏提取)以及不同溶剂(甲醇、50%甲醇、75%甲醇)对样品的处理。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,回流提取为提取方法。

3.2 流动相的选择

笔者参考相关文献^[11-13],分别考察了乙腈-0.1%乙酸溶液、甲醇-0.1%乙酸溶液、乙腈-0.1%磷酸溶液等不同比例的溶液作为流动相。结果发现,以乙腈-0.1%磷酸溶液(16:84, V/V)作为流动相时的分离效果最好。因此,本试验选择以乙腈-0.1%磷酸溶液(16:84, V/V)为流动相。

综上所述,本方法操作简便、结果准确,适用于测定利心丸中毛蕊花糖苷的含量。

参考文献

- [1] 刘晶,邹伟,安利佳.从现代衰老学说谈地黄的抗衰老作用研究进展[J].辽宁中医杂志,2008,35(6):952.
- [2] 卫生部药典委员会.中华人民共和国卫生部药品标准:中药成方制剂:第8册[S].1993:80.
- [3] 吴楠,张秀丽.HPLC法测定利心丸中丹皮酚的含量[J].中国药事,2009,23(6):568.
- [4] 王喜民,孙文,吴晶.利心丸质量标准的研究[J].中国医药指南,2014,12(18):88.
- [5] 张绍轩,扬军,王学农,等.利心丸中牡丹皮及防己的薄层色谱鉴别[J].时珍国医国药,2009,20(2):432.
- [6] 张绍轩,张红岩,司云珊,等.利心丸中生地黄的薄层色谱鉴别[J].时珍国医国药,2010,21(2):506.

HPLC法测定妥舒沙星环合物中的有关物质

章 激*(湖北文理学院附属医院,湖北襄阳 441021)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)33-4730-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.33.41

摘要 目的:建立测定妥舒沙星环合物中有关物质的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为YMC-Pack ODS A-312,流动相为乙腈-水(5:3, V/V),流速为1.2 ml/min,检测波长为250 nm,柱温为25℃,进样量为10 μl。结果:该色谱条件能将妥舒沙星环合物中主成分与有关物质基线分离;妥舒沙星环合物检测质量浓度线性范围为0.04~1.8 μg/ml($r=0.9999$);妥舒沙星环合物定量限为40.56 ng/ml,检测限为6.3 ng/ml;精密性、稳定性、重复性试验的RSD<3%;回收率为99.88%~100.68%(RSD=0.29%, $n=9$);6批样品总杂质含量测定结果均<0.1%。结论:该方法专属性强,灵敏度、准确度和精密度高,可用于妥舒沙星环合物中有关物质的测定。

关键词 妥舒沙星环合物;高效液相色谱法;有关物质

Determination of Related Substances in Tosufloxacin Cyclizaton by HPLC

ZHANG Ji(Hospital Affiliated to Hubei College of Arts and Sciences, Hubei Xiangyang 441021, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the determination of related substances in tosofloxacin cyclizaton. METHODS: HPLC was performed on the column of YMC-Pack ODS A-312 with mobile phase of acetonitrile-water(5:3, V/V) at a flow rate 1.2 ml/min, detection wavelength was 250 nm, column temperature was 25℃ and injection volume was 10 μl. RESULTS: The main component and related substances could be baseline separated by the conditions; the linear range was 0.04-1.8 μg/ml ($r=0.9999$); the limit of quantification was 40.56 ng/ml and the limit of detection was 6.3 ng/ml; RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 3%; recovery was 99.88%-100.68%(RSD=0.29%, $n=9$); the result of total impurities of 6 batches of sample were less than 0.1%. CONCLUSIONS: The method is specific, sensitivity with high accuracy and precision, and can be used for the determination of related substances in tosofloxacin cyclizaton.

KEYWORDS Tosufloxacin cyclizaton; HPLC; Related substance

妥舒沙星(Tosufloxacin)是日本富山化学工业公司于1990年开发上市的第三代广谱喹诺酮类抗菌药物,具有抗菌谱广、抗菌活性强的特点,对革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌、厌氧菌的抗菌活性明显强于环丙沙星、氧氟沙星、诺氟沙星等同类药物^[1]。目前,妥舒沙星片剂已在国内上市并广泛应用于临床治疗中。国内文献^[2-6]相继报道了甲苯磺酸妥舒沙星分散片、包合物、凝胶、滴眼液、滴耳液的制备及质量控制方法。

妥舒沙星环合物为妥舒沙星合成过程中的重要中间体,其质量控制情况将直接影响原料药的生产合格率,因此建立其中有关物质的测定方法显得尤为重要。国内一些文献^[7-10]曾报道了妥舒沙星制剂含量或用药后血液中药物浓度测定的方法,却鲜有关于其中间妥舒沙星环合物中有关物质测定的

报道。因此,本试验采用高效液相色谱法(HPLC),初步建立了测定妥舒沙星环合物中有关物质的方法,为其质量控制提供参考。

1 材料

1.1 仪器

LC-20A型HPLC仪,包括SPD-20A可变波长紫外检测器、LCsolution色谱工作站等(日本岛津公司);Secura225D-1CN型电子天平(德国赛多利斯公司);DHG-9240A型数显真空干燥箱(上海和呈仪器制造有限公司);YP-250SDP型综合药品稳定性试验箱(上海林频仪器股份有限公司)。

1.2 药品与试剂

妥舒沙星环合物样品(批号:S-140702、140601、140602、

[7] 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):2665.

[8] 何培根,刘菁,李志浩.补益地黄丸中毛蕊花糖苷的含量分析[J].现代中药研究与实践,2015,29(3):56.

[9] 王亮,张巧艳,年华,等.用HPLC法测定地黄叶中毛蕊花糖苷含量[J].药学服务与研究,2015,15(1):26.

[10] 赵群涛,张红伟,方永凯,等.HPLC法同时测定芪苈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):1200.

[11] 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,2015:124.

[12] 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.

[13] 陈健,刘钱林,张传平,等.HPLC法测定口炎颗粒中毛蕊花糖苷的含量[J].世界最新医学信息文摘,2015,15(65):110.

(收稿日期:2016-01-27 修回日期:2016-08-29)

(编辑:刘柳)

* 副主任药师。研究方向:医院药学及临床药学。E-mail:xfhost@163.com