

表 1 不同生产单位降压物质检查结果

药剂量	原液 (10 mg	原液 (12.5	临床剂量的	临床剂量的	临床剂量的	临床剂量的	7%	20%	30%	40%	60%
	·kg ⁻¹ , 50 g·	mg· kg ⁻¹ ,	1/2 (8.3 mg	1/3 (5.53	1/4 (4.15	1/5 (3.32	丙二醇	丙二醇	丙二醇	丙二醇	丙二醇
	L ⁻¹ 沈阳	62.5 g ·	·kg ⁻¹ , 41.5	mg · kg ⁻¹ ,	mg · kg ⁻¹ ,	mg · kg ⁻¹ ,					
	A) 0.2 mL · L ⁻¹),	0.2 g ·L ⁻¹)	0.2	27.67 g ·	20.75 g ·	16.6 g ·					
	kg ⁻¹	mL ·kg ⁻¹	mL ·kg ⁻¹	L ⁻¹)	0.2 L ⁻¹)	0.2 L ⁻¹)					
产单位				mL ·kg ⁻¹	mL ·kg ⁻¹	mL ·kg ⁻¹					
沈阳 A 公司	ds 降 4.15			ds降 3 kpa,	ds 降 3.04	ds 降 3.4	ds 降 2.84	ds 降 2.6	ds 降 3.02	ds 降 2.69	d s 降
(07040101)	kpa, dt 降			dt 降 1.83	kpa, dt 降	kpa , dt降	kpa , dt降	kpa , dt降	kpa , dt降	kpa , dt降	2.68kpa , dt
	3.65 kpa,	/	/	kpa, 1 kpa,	0.91 kpa,	1.23 kpa,	0.31 kpa,	0.49 kpa,	3.08 kpa,	2.01 kpa,	降 2.81
	3.71 kpa, ds			ds 降 2.7	0.69 kpa, dt	1.43 kpa, ds	0.77 kpa, ds	1.04 kpa, ds	3.85 kpa, ds	2.22 kpa, ds	kpa, 2.89
	降 3.21			kpa	2.85 降	3.29 降	2.67 kpa	降 2.67 kpa	降 4.01 kp	降 2.70kpa	kpa, ds 降
	kpa			kpa	kpa	kpa					2.7 kpa
苏州 B 公司	ds 降 2.96	ds 降 3.4	ds 降 3.7	ds 降 4.51	ds 降 4.53						
(050525)	kpa, dt 降	kpa , dt降	kpa , dt降	kpa , dt降	kpa , dt降						
	2.17 kpa,超	1.49 kpa,	0.53 kpa,	0.93 kpa,	1.45 kpa,						
	/ 过 ds 降压	1.04 kpa, ds	0.56 kpa, ds	0.79 kpa, ds	0.83 kpa, ds	/	/	/	/	/	/
	数值的 1/2,	降 3.6 kpa	降 3.6 kpa	4.17 降	4.48						
	接近 ds 降			kpa	kpa						
	压数值										
河南 C 公司	ds 降 3.41	ds 降 2.93	ds 降 3.34	ds 降 3.18							
(0604121)	kpa, dt 降	kpa , dt降	kpa , dt降	kpa , dt降							
	/ 0.75 kpa, dt	0.73 kpa,	1.1 kpa,	0.64 kpa,	/	/	/	/	/	/	/
	降 0.7 kpa,	0.55 kpa, ds	0.42 kpa, ds	0.44 kpa, ds							
	ds 降 2.77	降 3.17	降 3.12	降 2.89							
	kpa	kpa	kpa	kpa							
原标准					无标准						
修订后的标准					取本品,依法检查 (《中国药典》2005年版附录 G) 剂量按猫体重每 1 kg注射 4.15mg,应符合规定。						
磷酸组织胺					中检所 150510 - 200412						

示生产单位在制剂生产中应注意严格控制丙二醇用量,制定合理的处方用量,以免造成降压物质超标,引起临床不良反应。加之利福霉素钠为发酵后的原料半合成产品用于静脉注射,如污染组胺类物质可引起急性降血压,因此,我们认为,为确保临床用药安全,有必要考虑增加利福霉素钠注射液降压物质检查项。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 国家药品监督管理局国家药品标准 (化学药品地方标准上升国家标准)第二册 [S], 116-117.

[2] 国家药典委员会. 《中国药典》. 2005年版. 二部 [S]. 附录 G.

[3] 张光杰,陈允发. 注射剂赋形剂 [M] 侯惠民,王浩,张光杰. 药物辅料应用技术. 第二版. 中国医药科技出版社, 2002: 32-33.

[4] 罗明生,高天亮,丙二醇 [M]. 罗明生,高天亮. 药剂辅料大全. 四川科学技术出版社, 1995: 300-30.

HPLC法测定益心丸中的华蟾酥毒基、脂蟾毒配基含量

郑剑红, 闵显峰, 黄诺嘉 (广东省汕头市药品检验所, 汕头 515041)

摘要 目的:建立测定益心丸中的华蟾酥毒基、脂蟾毒配基含量的高效液相色谱分析方法。方法:采用 HPLC法, Diamonsil C18色谱柱 (250 mm ×4.6 mm, 5 μm),以 0.5%磷酸二氢钾-乙腈 (50:50) (用磷酸调节 pH值为 3.2)为流动相;流速为 1.0 mL · min⁻¹,检测波长为 296 nm。结果:华蟾酥毒基、脂蟾毒配基在进样量分别为 0.127~5.096 μg和 0.124~4.960 μg范围内线性关系良好,平均回收率分别为 102.81%和 98.83%,RSD分别为 0.98%和 0.42%。结论:本方法简便、准确、快速,可作为该制剂的质控方法。

关键词:益心丸; HPLC; 华蟾酥毒基; 脂蟾毒配基

中图分类号: 921.2 文献标识码: A 文章编号: 1009 - 3656 (2009) - 5 - 358 - 4

Determination of Cinobufagin and Resbufogenin in Yixin Pills by HPLC

Zheng Jian-hong, Ming Xian-feng, Huang Nuo-jia(Shantou Institute for Drug Control, Shantou 515041)

作者简介:郑剑红,女,副主任中药师。学科及研究方向:药品检验。联系电话:0754 - 88392243。

Abstract Objective: To establish a method of determining cinobufagin and resibufogenin in Yixin Pills. **Methods:** The contents of cinobufagin and resibufogenin were determined by HPLC. The chromatographic conditions were: Diamonsil C18 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) column, using 0.5% potassium phosphate-acetonitrile (50:50, pH 3.2), and the flow rate was 1.0 mL · min⁻¹, detection wavelength 296 nm. **Results:** The good linearity of cinobufagin and resibufogenin was in the range of 0.127 ~ 5.096 μg and 0.124 ~ 4.960 μg, respectively; average recovery and RSD were 102.81% and 0.98% for cinobufagin, 98.83% and 0.42% for resibufogenin. **Conclusion:** This method is simple, accurate and fast and can be used to control the quality of Yixin Pills.

Key words: Yixin Pill; HPLC; cinobufagin; resibufogenin

益心丸为《卫生部药品标准》中药成方制剂第十五册收载品种^[1],由红参、三七、蟾酥、附子(制)、珍珠、冰片、人工牛黄等十一味药组成,具有益气强心,芳香开窍,活血化瘀之功效。临床上用于治疗心绞痛、胸闷、心悸、气促及冠心病、心功能不全等症。现代药理研究表明蟾酥具有强心作用,即抑制心肌细胞膜上的 Na⁺, K⁺-ATPase 酶所致,尚能直接改变心肌细胞内钙的贮存,从而直接或间接地改变了 Ca²⁺ 浓度等作用。还能增加心肌营养性血流量,改善微循环,增加心肌供氧,对因血栓形成所致的冠状动脉血管狭窄而引起的心肌梗死等缺血性心脏疾病有一定的疗效^[2],与功能主治有一定相关性。本文采用 HPLC 法测定益心丸中蟾酥的主要有效成分华蟾酥毒基、脂蟾毒配基的含量,该方法快速、简便、重现性好,可有效的控制含蟾酥制剂的内在质量。

1 仪器与试药

1.1 仪器

高效液相色谱仪 (Agilent 1100 型, Waters 515/2487 型);色谱柱: Diamonsil C18 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), Agilent Hyperil ODS (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 依利特 Hyperil 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm);超声波清洗器 (KUDOS SK 250 LHC 型);电子天平 (METTLER XS205 型)。

1.2 试药

华蟾酥毒基对照品 (批号 110803-200504, 含量测定用);脂蟾毒配基对照品 (批号 110718-200507, 含量测定用,由中国药品生物制品检定所提供);乙腈为色谱纯;水为超纯水;其他试剂为分析纯;益心丸 (批号 060304, 060305, 060306, 040605, 040503, 040604, 030729, 030730, 030728, 030831, 及相应的阴性对照样品,均由汕头市万年青制药有限公司提供)。

2 实验方法与结果

2.1 色谱条件^[3]

Diamonsil C18 色谱柱 (5 μm, 250 mm × 4.6 mm);流动相: 0.5% 磷酸二氢钾-乙腈 (50:50) (用

磷酸调节 pH 值为 3.2);检测波长为 296 nm;流速: 1.0 mL · min⁻¹;柱温 40 °C, 理论板数: 按华蟾酥毒基峰、脂蟾毒配基峰计应分别不低于 4000。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取经五氧化二磷减压干燥 24 h 的华蟾酥毒基对照品 25.48 mg 和脂蟾毒配基对照品 24.80 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇使溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 即每 1 mL 分别含华蟾酥毒基对照品 0.254 8 mg, 脂蟾毒配基对照品 0.248 0 mg 的混合溶液。精密量取对照品混合溶液 5 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取本品 40 丸, 研细, 取约 0.22 g, 精密称定, 置锥形瓶中, 精密加入乙酸乙酯 50 mL, 称定重量, 超声处理 (功率 300W, 频率 50 kHz) 40 min, 放冷, 再称定重量, 用乙酸乙酯补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 20 mL, 挥干, 残渣加甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 按处方中药味的比例, 以相同工艺制备的缺蟾酥药材的阴性对照样品, 同法制成阴性对照溶液。

2.3 测定法

分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各 20 μL, 按上述色谱条件进样, 测定。结果表明, 阴性对照溶液在与华蟾酥毒基、脂蟾毒配基对照品峰相同的保留时间处无干扰峰出现, 说明处方中其它药味对测定结果无影响。见图 1。

2.4 线性关系的考察

精密量取“2.2 溶液的制备”项下的对照品混合溶液 1.25、2.5、5、10、20、50 mL, 分别置于 50 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀。分别精密量取一系列浓度的对照品溶液各 20 μL, 注入液相色谱仪, 测定峰面积积分值, 以对照品进样量 (X) 对峰面积 (Y) 进行线性回归, 得回归方程: 华蟾酥毒基 $Y = 68.082X - 25.935$, $r = 0.9999$, $n = 6$ 。脂蟾毒配基 $Y = 74.274X - 29.466$, $r = 0.9999$, $n = 6$ 。结果表明: 华

蟾酥毒基、脂蟾毒配基对照品分别在 0.127 ~ 5.096 和 0.124 ~ 4.960 μg 范围内线性良好。

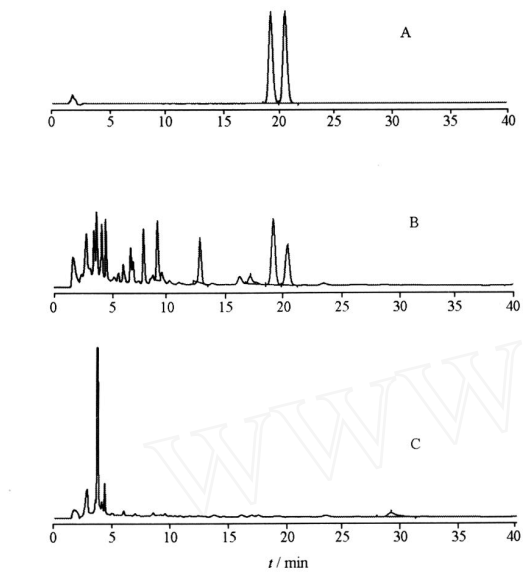


图 1 华蟾酥毒基、脂蟾毒配基 HPLC 图
A. 华蟾酥毒基、脂蟾毒配基对照品; B. 样品; C. 阴性样品

2.5 精密度试验

2.5.1 重复性 取同一批 (批号 060306) 样品 6 份, 按含量测定方法测定。结果样品中的华蟾酥毒基平均含量为 $1.9931\text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 为 0.79%; 脂蟾毒配基平均含量为 $1.3389\text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 为 1.00%。

表 1 加样回收试验结果

类别	编号	取样量 /g	样品已知量 /mg	对照品加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
华蟾酥毒基	1	0.117 1	0.233 4	0.213 5	0.452 9	102.81	102.81	0.98
	2	0.113 5	0.226 2	0.213 5	0.446 6	103.23		
	3	0.119 8	0.238 8	0.213 5	0.459 0	103.19		
	4	0.117 7	0.234 6	0.213 5	0.455 2	103.33		
	5	0.114 0	0.227 2	0.213 5	0.441 9	100.56		
	6	0.117 5	0.234 2	0.213 5	0.454 9	103.37		
脂蟾毒配基	1	0.117 1	0.156 8	0.138 4	0.294 4	99.42	98.83	0.42
	2	0.113 5	0.152 0	0.138 4	0.288 7	98.77		
	3	0.119 8	0.160 4	0.138 4	0.297 7	99.21		
	4	0.117 7	0.157 6	0.138 4	0.294 1	98.63		
	5	0.114 0	0.152 6	0.138 4	0.289 2	98.70		
	6	0.117 5	0.157 3	0.138 4	0.293 3	98.27		

2.8 样品含量测定

取 10 批样品, 按“2.2 溶液的制备”项下操作,
表 2 10 批样品含量测定结果

批号	040605	060304	030729	040503	030730	030831	030728	040604	060306	060305
华蟾酥毒基和脂蟾毒配基的平均总含量	4.11	3.31	3.24	3.87	3.76	3.84	3.1	3.66	3.33	3.20

2.9 方法的耐用性

2.5.2 中间精密度 取同一批 (批号 060306) 样品 4 份, 由 A、B 两人于不同时间, 分别用高效液相色谱仪 (Waters515/2487、Agilent1100) 依法测定。结果样品中的华蟾酥毒基、脂蟾毒配基总含量平均为 $3.31\text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 为 0.82%, 结果表明精密度良好。

2.6 稳定性试验

精密吸取同一供试品 (批号 060306) 溶液, 室温自然条件下, 于 0, 1, 2, 20, 26, 30 h 各进样一次, 记录华蟾酥毒基和脂蟾毒配基的峰面积, 计算 RSD 分别为 0.38% 和 1.12%。结果表明, 供试品溶液在 30 h 内稳定。

2.7 加样回收试验

精密称取同一批已知含量 (批号 060306, 总含量为 $3.33\text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 其中华蟾酥毒基含量为 $1.9931\text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 、脂蟾毒配基含量为 $1.3389\text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) 的样品 6 份, 每份约 0.1 g, 分别精密加入华蟾酥毒基对照品 ($0.00427\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)、脂蟾毒配基的对照品 ($0.002768\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 混合溶液各 50 mL (精密称取经五氧化二磷减压干燥 24 h 的华蟾酥毒基对照品 21.35 mg 和脂蟾毒配基对照品 13.84 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加乙酸乙酯使溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 10 mL, 置 500 mL 量瓶中, 加乙酸乙酯至刻度, 摇匀, 即得), 按含量测定方法测定, 计算回收率。结果见表 1。

在上述色谱条件下, 用外标法测定, 并计算样品中的华蟾酥毒基与脂蟾毒配基的总量。结果见表 2。

取同一批样品 (批号 060306), 按供试品溶液的

制备方法平行制备 2 份,采用不同品牌的色谱柱,测定结果见表 3。从下表可见 3 种不同品牌的色谱柱均可达到标准规定^[4]的分离效果,检测结果基本一致。

表 3 不同品牌色谱柱的测定结果

色谱柱	理论板数 (按华蟾酥毒基计)	分离度	总含量 /mg · g ⁻¹	平均总含量 /mg · g ⁻¹	RSD /%
Diamonsil C18	8390	2.21	3.277 3	3.31	0.9
(4.6 mm ×250 mm)	8 220	2.19	3.351 1		
Agilent Hyperil ODS	11 875	4.48	3.280 1		
(4.6 mm ×250 mm)	11 878	4.49	3.287 2		
依利特 Hyperil	8 545.638	1.68	3.312 8		
(4.6 mm ×200 mm)	8 433.852	1.71	3.324 0		

3 讨论

3.1 提取溶剂的选择

曾进行下列试验:用甲醇直接提取,杂质较多,样品主峰不能达到基线分离,样品在色谱柱中不易被洗脱干净;用乙醚脱脂后再用甲醇提取,结果发现在乙醚液的液相色谱中有明显的华蟾酥毒基、脂蟾毒配基峰,说明此法会造成含量的损失;采用乙酸乙酯提取,即可减少杂质的提出,又不会造成含量的损失,效果最好;故选择乙酸乙酯作为提取溶剂。在试验的同时,取同一批号样品 4 份,分别精密加入乙酸乙酯 20, 30, 50, 70 mL 进行提取,结果表明当提取溶剂为 50 mL 时可提取完全,故提取溶剂确定为 50 mL。

3.2 样品提取时间的选择

取同一批号样品 5 份,分别精密加入乙酸乙酯 50 mL,除“超声处理(频率 50 kHz,功率 300w) 20,

30, 40, 50, 70 min 外,其余依法操作,结果表明超声处理 40 min 即可提取完全,故确定提取时间为 40 min。

3.3 流动相选择

参照《中国药典》2005 年版蟾酥含量测定项下的流动相^[3],结果表明检测成分华蟾酥毒基、脂蟾毒配基峰的分离度好,峰形对称、尖锐,保留时间合适,故确定流动相为 0.5%磷酸二氢钾-乙腈(50:50)(用磷酸调 pH 为 3.2)为佳。

参考文献

[1] 国家药典委员会编.《中华人民共和国卫生部药品标准》[S]. 中药成方制剂第十五册, 1998: 171-172.

[2] 南京中医药大学编著.《中药大辞典》下册(第二版)[M]. 上海:上海科学技术出版社. 2006, 3832-3834.

[3] 国家药典委员会编.《中国药典》2005 年版一部[S]. 2005: 265-266.

[4] 国家药典委员会编.《中国药典》2005 年版一部[S]. 2005: 附录 33.

HPLC 法测定盐酸安非他酮缓释片的释放度

袁其娟¹,王震红¹,杨永刚²(1. 吉林市第五人民医院,吉林 132001; 2. 辽宁省食品药品检验所,沈阳 110023)

摘要 目的:建立测定盐酸安非他酮缓释片释放度的方法。方法:采用 HPLC 法,色谱柱为 Kromasil C₁₈ (150 mm ×4.6 mm, 5 μm);流动相为磷酸盐缓冲液(pH 5.8) 乙腈(60:40),检测波长 251 nm。结果:线性范围为 0.061~0.548 μg(r=1.000 0),平均回收率为 100.3%,RSD%=0.18%(n=9)。结论:所用方法简便、快速,专属性强,灵敏度高,准确性好。

关键词:高效液相色谱法;盐酸安非他酮缓释片;释放度

中图分类号:921.2 文献标识码:A 文章编号:1009-3656(2009)-5-361-3

Determination of Drug Release from Bupropion Hydrochloride Sustained-release Tablets by HPLC

Yuan Qi-juan¹, Wang Zhen-hong¹, Yang Yong-gang²(1. The Fifth People's Hospital of Jilin, Jilin 132001; 2. Liaoning Institute for

作者简介:袁其娟,女,主管药师。学科及研究方向:药学。联系电话:13944216824。