2.5 精密度

用兔眼房水配制高、中、低 3种不同浓度的丝裂霉素 C溶液各 3份,用"2.1"进行测定,考察精密度,高、中、低 3种浓度的日内 RSD为 2.2%, 2.5%, 2.9%;日间 RSD为 3.1%, 2.3%, 2.9%。

2.6 稳定性

取精密度项下中等浓度丝裂霉素 C溶液 1份,分别于 0, 0.5, 1, 2, 3 h测定,丝裂霉素 C峰面积的 RSD为 2.7%。

2.7 样品制备与测定

取模拟青光眼滤过性手术、在巩膜床与巩膜瓣之间埋植 PLGA缓释丝裂霉素 C 1粒的兔子,分别于 0.1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 d时抽取房水 50 μL, 10 000 r·min^{-1}离心 5 min后,取上部澄清液体 10 μL进样。照外标法计算不同时间房水中药物的含量。结果丝裂霉素 C的含量分别为 1.56, 1.25, 0.98, 0.81, 0.53, 0.20, 0.07 μg·mL^{-1}。

3 应用

笔者应用上述方法连续监控兔眼房水内缓释丝裂霉素 C,发现在第 6天时还可以检测到样品微量存在,第 7天时已经检测不到,证明大致可以维持 6 d的缓释期。

4 讨论

4.1 应用 RAM-HPLC直接进样测定房水中 MMC的含量,该法不经样品前处理,不但快速准确,提高了分析度,对眼科小样品量的试样的测定,更具有重要意义。PLGA作为药物辅料已广泛应用,用于眼科缓释药物载体未见报道,在试验中我们成功手术埋植了丝裂霉素 C缓释系统,并且测定其在兔眼中有明显的缓释功效。

4.2 丝裂霉素 C缓释系统在眼睛内产生的代谢途径还没有完全弄清楚,PLGA在房水内的降解及其对组织的影响需进一步考察。

REFERENCES

[1] WU L L, YIN J F. Application of Mitomycin C in refractory glaucoma filtration operation [J]. Chin J Ophthalmol(中华眼科杂志), 1996, 32(1): 32.

[2] PALMER S S. Mitomycin as adjust chemotherapy with trabeculectomy[J]. Ophthalmology, 1991, 98(3): 317-321.

[3] LIN H. Recent advances in anti-scarring for glaucoma filtration surgery [J]. Foreign Med Sci(Ophthalmol)(国外医学眼科学分册), 2004, 28(1): 25-28.

[4] MEHEL E, WEBER M, STORK L, *et al*. A novel method for controlling the quantity of mitomycin-C applied during filtering surgery for glaucoma[J]. J Ocul Pharmacol Ther, 1998, 14(6): 491-496.

[5] MA J, XIE J W, JIA Z P, *et al*. Synthesis and evaluation of restricted access stationary phases [J]. Acta Pharm Sin(药学学报), 1998, 35(5): 369.

收稿日期: 2007-12-03

奥红胶囊质量标准研究

宫丽, 曹尉尉, 杨延莉 (中国人民解放军第 411医院药学专科中心, 上海 200434)

摘要: 目的 建立奥红胶囊的质量标准。方法 采用 TLC和 HPLC的方法对胶囊中奥美拉唑和克拉霉素进行定性研究。含量测定采用反相高效液相色谱法(RP-HPLC),色谱柱为 ZorbaxODS C_{18}柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm),克拉霉素以乙腈-磷酸盐缓冲液(0.069 mol·L^{-1}磷酸二氢钾, pH 5.5, 2 mL三乙胺)(50∶50)为流动相,检测波长: 210 nm,柱温: 40 ℃,流速 1 mL·min^{-1};奥美拉唑以乙腈-磷酸盐缓冲液(0.02 mol·L^{-1}磷酸二氢钾, pH 4.5)(30∶70)为流动相,检测波长 302 nm,柱温: 25 ℃,流速 1 mL·min^{-1}。结果 确定了克拉霉素和奥美拉唑的定性和定量方法。结论 试验中所采用方法快速、灵敏、准确,可为奥红胶囊的质量评价提供有效手段。

关键词: 克拉霉素;奥美拉唑;薄层色谱法;高效液相色谱法

中图分类号: R917.101; R943.3　　文献标识码: B　　文章编号: 1007-7693(2008)06-0533-04

Study on Quality Standard of Aohong Capsule

GONG Li, CAO Wei-wei, YANG Yan-li(*Research Center of Pharmacy, 411st Hospital of PLA, Shanghai* 200434, *China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a quality standard of Aohong capsule. **METHODS** Thin layer chromatography(TLC) and HPLC were used to identify clarithromycin and omeprazole in Aohong capsule. RP-HPLC was used for the determination of clarithromycin and omeprazole. The chromatographic procedure of clarithromycin was carried out using Zorbax ODS C_{18}(150 mm×4.6

作者简介: 宫丽, 女, 硕士, 主管药师　Tel: 13564467089　E-mail: dalianli@yahoo.com.cn

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

mm, 5 μm) as an analytic column and a mixture of 50 volume of acetonitrile, 50 volume of 0.069 mol·L^{-1} potassium dihydrogen phosphate, 0.1 volume of triethylamine as a mobile phase at a flow rate of 1.0 mL·min^{-1}. The detection wavelength was set at 210 nm, column temperature was 40 ℃. The chromatographic procedure of omeprazole was carried out using Zorbax ODS C_{18} (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) as an analytic column and a mixture of 30 volume of acetonitrile, 70 volume of 0.02 mol·L^{-1} potassium dihydrogen phosphate as a mobile phase at a flow rate of 1.0 mL·min^{-1}. The detection wavelength was set at 302 nm, column temperature was 25 ℃. **RESULTS** TLC and HPLC methods were confirmed for clarithromycin and omeprazole. **CONCLUSION** This method is quick, accurate, sensitive and can be used for the quality assess of Aohong capsule.

KEY WORDS: clarithromycin; omeprazole; TLC; HPLC

奥红胶囊是本院自制的复方制剂，主要由奥美拉唑和克拉霉素组成。奥美拉唑作用胃腺壁细胞，为 H-K-ATP 酶抑制剂[1]，对胃酸分泌有明显选择性抑制作用，提高了胃内的 pH 值，为抗生素发挥抗幽门螺旋杆菌作用提供一个较好的 pH 基础。同时奥美拉唑可通过刺激胃窦 G 细胞释放大量的胃泌素，血清中胃泌素浓度升高，增加胃黏膜的血流量，改善微循环，以利于溃疡的愈合。另外，奥美拉唑本身具有另外一个优点就是能够抑制胃幽门螺旋杆菌的生长，也有利于溃疡的愈合[2]。克拉霉素是新型 14元环的半合成新大环内酯类抗生素，也称甲红霉素，其体内代谢产物 14-羟克拉霉素发挥抗菌作用，可在胃内达到高浓度，有较好的渗透胃黏膜的能力，是目前对幽门螺旋杆菌作用最强的药物之一[3]。奥美拉唑与克拉霉素合用对根除幽门螺旋杆菌疗效显著。为了对奥红胶囊的质量进行控制，本研究制定了奥红胶囊的质量标准。

1 仪器与试验材料

岛津 LC-6A 高效液相色谱仪（日本岛津公司）；SK2200H 型超声波清洗器（上海科导超声仪器有限公司）。克拉霉素对照品（中国药品生物制品检定所，规格 200 mg 批号 130558-200501，纯度：99.8%），奥美拉唑对照品（Sigma 公司），奥红胶囊［解放军 411 医院制剂室自制，南联制字（2006）F57020，每粒含奥美拉唑 10 mg，含克拉霉素 125 mg 批号 060105，060308，060412］，乙腈为色谱纯，水为注射用水，其它试剂均为分析纯。

2 试验方法与结果

2.1 奥红胶囊的装量差异[4]附录 IE

取胶囊 20粒，分别精密称定重量后，倾出内容物。胶囊用小刷或棉签拭净，再分别精密称定胶囊壳重量，求出每粒内容物的装量。与平均量（0.381 7 g·粒$^{-1}$）相比较，除 1粒胶囊超出装量差异限度外，其余胶囊的装量差异限度均在平均装量的 ±7.5% 以内，故奥红胶囊的装量差异符合规定。

2.2 奥红胶囊的崩解时限[4]附录 XA

取奥红胶囊 6粒按 2005版中国药典胶囊剂项下崩解时限测定方法（吊篮加挡板法）进行测定，6粒胶囊的崩解时限分别为 22，20.5，19.5，21，20，20.5 min，均小于 30 min，故奥红胶囊的崩解时限符合规定。

2.2 定性鉴别

2.2.1 克拉霉素薄层鉴别[4]270-271 取胶囊内容物 87.4 mg 加 1 mL 氯仿溶解，作为供试品溶液；取克拉霉素对照品 50.4 mg加氯仿 1 mL 溶解，作为对照品溶液；同法制备不含克拉霉素的阴性对照品溶液。吸取上述三种溶液各 5 μL，分别点于同一硅胶 G 板上，以三氯甲烷-甲醇-氨溶液（80∶20∶0.2）为展开剂，展开，取出，晾干，在 110 ℃加热 10 min，喷以显色剂（硫酸铈 2.0 g与钼酸铵 2.5 g 加 10% 硫酸溶液使溶解成 100 mL）再在 100 ℃加热 10 min。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。

2.2.2 克拉霉素的 HPLC 鉴别 在含量测定项下记录的色谱图中，供试品主峰的保留时间应与对照品主峰的保留时间一致（t_R = 5.65 min）。见色谱图 1。

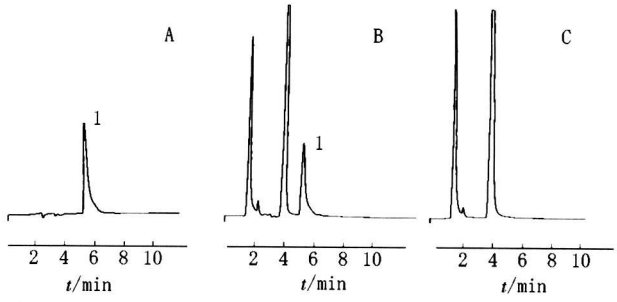

图 1 RP-HPLC 图

A－克拉霉素对照品；B－奥红胶囊内容物；C－阴性对照品；1－克拉霉素

Fig 1 RP-HPLC chromatograms

A－clarithromycin reference substance; B－Aohong capsule content; C－negative sample; 1－clarithromycin

2.2.3 奥美拉唑的 HPLC 鉴别 在含量测定项下记录的色谱图中，供试品主峰的保留时间应与对照品主峰的保留时间一致（t_R = 12.42 min）。见色谱图 2。

2.3 克拉霉素的含量测定

2.3.1 色谱条件

色谱柱：Zorbax ODS型 C_{18}柱（150 mm × 4.6 mm，5 μm），流动相：乙腈-磷酸盐缓冲液（磷酸二氢钾 9.11 g 加水溶解稀释至 1 000 mL，加三乙胺 2 mL，用磷酸调节 pH 值 5.5）（50∶50），灵敏度：AUFS 0.04，柱温：40 ℃，流速：1.0 mL·min^{-1}，检测波长：210 nm，进样量 20 μL，理论塔板数不低于 3 000。

2.3.2 对照品贮备液的制备 精密称取克拉霉素对照品 5 mg 置 10 mL 量瓶中，加流动相溶解并稀释至刻度，摇匀，即得含克拉霉素为 0.5 mg·mL^{-1}的对照品贮备溶液。

2.3.3 样品溶液的制备 取胶囊 20粒，将其内容物置研钵中研成细粉，精密称取细粉 0.12 g 置 25 mL 量瓶中，加流动

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

相适量，超声处理 15 min，冷至室温。然后加流动相稀释至刻度，摇匀，用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤，精密量取续滤液 10 mL，置 25 mL 量瓶中，加流动相稀释至刻度。同法制得不含克拉霉素的阴性对照品溶液。

2.3.4 标准曲线的制备　精密量取克拉霉素对照品贮备液用流动相配制成 0，0.05，0.1，0.2，0.3，0.4，0.5 mg·mL^{-1}的系列标准溶液，进样 20 μL，记录色谱图，以峰面积 A 为纵坐标，以样品浓度 C（mg·mL^{-1}）为横坐标计算得回归方程：A = 21 433 C + 149.1，r = 0.999 8。结果表明克拉霉素在 0.05 ~ 0.5 mg·mL^{-1}内线性关系良好。

2.3.5 重复进样精密度试验　精密量取对照品溶液 6 mL 置 10 mL 量瓶中，加流动相稀释至刻度，摇匀。在上述色普条件下连续进样 5次，记录峰面积，计算其 RSD 为 0.67%，说明该方法有良好的精密度。

2.3.6 重复性试验　取奥红胶囊内容物约 0.12 g，共 6份，精密称定，按“2.3.3”方法制备供试品溶液，按上述色谱条件测定，计算含量，其 RSD 为 1.21%，说明该方法有良好的重复性。

2.3.7 稳定性试验　取奥红胶囊内容物约 0.12 g，精密称定，按“2.3.3”方法制备供试品溶液，分别于 0，1，2，4，6，8 h 按上述色谱条件测定峰面积。结果峰面积 RSD 为 0.84%，说明在 8 h内供试品溶液中克拉霉素稳定。

2.3.8 最低检测限和最低定量限　取上述对照品贮备液，加流动相逐级稀释。进样，直至信噪比 S/N ⩾ 3，此时进样量即为最低检测限，S/N = 10时即为最低定量限。测得克拉霉素的最低检测限为 1.6 ng，最低定量限为 5.2 ng。

2.3.9 加样回收率试验　精密量取已知含量为 356.8 mg·g^{-1}奥红胶囊内容物约 0.12 g，共 6份，分别加入克拉霉素对照品溶液 6，8，10 mL，按“2.3.3”方法制备溶液，按上述色谱条件测定，计算克拉霉素回收率。结果见表 1。

表 1　克拉霉素回收率试验结果（n = 2）

Tab 1　Results of recovery test of clarithromycin（n = 2）

序号	样品量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	42.86	3.0	44.72	97.54		
2	42.31	3.0	43.97	97.04		
3	43.15	4.0	46.33	98.26	99.01	2.17
4	42.64	4.0	47.08	100.94		
5	42.27	5.0	46.25	97.84		
6	43.34	5.0	49.52	102.44		

2.3.10 样品含量测定　精密称定奥红胶囊内容物约 0.12 g 按“2.3.3”方法操作制备供试品溶液，按上述色谱条件测定峰面积，计算含量。3批样品中克拉霉素的含量分别为 351.6，356.8，353.5 mg·g^{-1}。

2.4 奥美拉唑含量测定

2.4.1 色谱条件　色谱柱：Zorbax ODS型 C_{18}柱（150 mm × 50 mm，5 μm），流动相：乙腈-磷酸盐缓冲液（0.02 mol·L^{-1} 磷酸二氢钾，pH 4.5）（30∶70），灵敏度：AUFS 0.08，检测波长：302 nm，柱温：25 ℃，流速：1.0 mL·min^{-1}，检测波长：302 nm，进样量 20 μL，理论塔板数不低于 2 000，见色谱图 2。

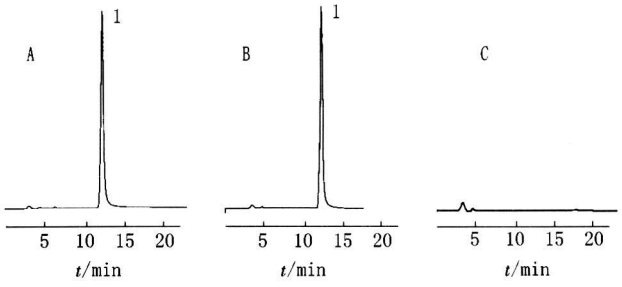

图 2　RP-HPLC 图

A－奥美拉唑对照品；B－奥红胶囊内容物；C－阴性对照品；1－奥美拉唑

Fig 2　RP-HPLC chromatograms

A－omeprazole reference substance；B－Aohong capsule content；C－negative sample；1－omeprazole

2.4.2 对照品溶液的制备　精密称取奥美拉唑对照品 2.135 mg 置 25 mL量瓶中，用流动相溶解并稀释至刻度，即得。

2.4.3 样品溶液的制备　取胶囊 20粒，将其内容物置研钵中研成细粉，精密称取细粉 0.35 g 置 50 mL量瓶中，加甲醇适量，超声处理 15 min，冷至室温。然后加甲醇至刻度，摇匀，用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤，精密量取续滤液 5 mL，置 25 mL量瓶中，加甲醇稀释至刻度，即得。同法制得不含奥美拉唑的阴性对照溶液。

2.4.4 标准曲线的制备　精密量取奥美拉唑对照品贮备液配制成 0.008 54，0.017 08，0.034 16，0.051 24，0.068 32，0.085 4 mg·mL^{-1}系列标准溶液，进样 20 μL，记录峰面积，以对照品浓度 C（mg·mL^{-1}）为横坐标，以峰面积 A 为纵坐标，绘制标准曲线，计算得回归方程：A = 675 897 C - 683.49，r = 0.999 9。结果表明奥美拉唑在 0.008 45 ~ 0.084 5 mg·mL^{-1}内线性关系良好。

2.4.5 重复进样精密度试验　精密量取对照品溶液 4 mL，置 10 mL量瓶中，加流动相稀释至刻度，摇匀。在上述色谱条件下连续进样 5次，每次 20 μL，记录峰面积，计算其 RSD 为 0.91%，说明有良好的精密度。

2.4.6 重复性试验　取奥红胶囊内容物约 0.35 g 共 6份，精密称定，按“2.4.3”项下制备供试品溶液，按上述色谱条件测定，计算含量，其 RSD 为 1.19%，说明该方法具有良好的重复性。

2.4.7 稳定性试验　取奥红胶囊内容物约 0.35 g 精密称定，按“2.4.3”项下制备供试品溶液，分别于 0，1，2，4，6，8 h 按上述色谱条件测定峰面积。结果峰面积 RSD 为 0.685%，说明在 8 h内供试品溶液中奥美拉唑稳定。

2.4.8 最低检测限和最低定量限　取上述对照品贮备液，加流动相逐级稀释。进样，直至信噪比 S/N ⩾ 3，此时进样量即为最低检测限，S/N = 10时即为最低定量限。测得奥美拉唑的最低检测限为 1.7 ng，最低定量限为 6.4 ng。

2.4.9 加样回收率试验　采用加样回收，取已知含量为

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

25.21 mg·g^{-1}奥红胶囊内容物约 0.35 g 共 6份, 精密称定。分别加入奥美拉唑对照品溶液 4, 6, 8 mL, 按“2.4.3”方法制备溶液, 按上述色谱条件测定, 计算奥美拉唑回收率。结果见表 2。

表 2 奥美拉唑回收率试验结果 (n= 2)

Tab 2 Results of recovery test of omeprazole(n = 2)

序号	样品量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	8.82	0.342	9.267	101.1	101.03	1.86
2	8.56	0.342	9.203	103.4		
3	9.03	0.512	9.454	99.1		
4	8.97	0.512	9.497	100.2		
5	8.66	0.683	9.274	99.3		
6	9.04	0.683	10.021	103.1		

2.4.10 样品含量测定 精密称定奥红胶囊内容物约 0.35 g 按“2.4.3”方法制备供试品溶液, 按上述色谱条件测定峰面积, 计算含量, 3批样品中奥美拉唑的含量分别为 24.04, 25.21, 25.82 mg·g^{-1}。

3 讨论

以奥美拉唑作为对照品, 对胶囊内容物的甲醇溶液进行扫描, 结果表明二者在 302 nm 处均有最大吸收峰。以克拉霉素作为对照品, 对胶囊内容物的克拉霉素流动相溶液进行扫描, 结果表明二者在 210 nm 处均有最大吸收峰, 这样为研究和开发这一院内自制制剂奥红胶囊, 控制其质量, 找到了检测方法。经液相色谱测定表明在 302 nm 处测得供试溶液对奥美拉唑干扰较少, 且分离效果良好, 故选用此波长作为检测奥美拉唑波长, 选 210 nm 波长作为检测克拉霉素波长。试验中发现克拉霉素分别用流动相和甲醇配制所得的溶液, 前者的 HPLC谱要比后者稳定, 所以试验中克拉霉素均用流动相进行配制。采用薄层色谱对奥红胶囊内容物进行定性鉴别, 方法简便、可靠。实验结果显示, 用 RP-HPLC法对奥红胶囊内容物中奥美拉唑和克拉霉素进行定量分析, 具有较好的准确度和灵敏度, 实验的重复性高。本方法可用于奥红胶囊中克拉霉素和奥美拉唑的定性及定量研究, 为奥红胶囊的质量控制建立了分析方法。

REFERENCES

[1] SHIN JM, BESANCON M, SIMON A, *et al*. The site of action of pantoprazole in the gastric H$^+$/K$^+$-ATPase [J]. Biochim Biophys Acta, 1993, 1148(2): 223-233.

[2] WANG G S, WU J B, ZHANG D Q. 25 cases of peptic ulcer in unsteady stage treated by omeprazole[J]. ModMed Health(现代医药卫生), 2005, 21(10): 1233-1233.

[3] CHEN L N, WANG J J. Clinical observation of clotrimazde combined acmeloze in treating HP infection [J]. Hebei Med(河北医学), 1999, 5(2): 15-16.

[4] Ch.P(2005) VolⅡ (中国药典 2005年版.二部) [S]. 2005: Appendix(附录) IE; Appendix(附录) XA; 270-271.

收稿日期: 2007-11-27

HPLC同时测定心可舒片中 3种有效成分

廖正根, 赵国巍, 梁新丽, 王光发 (现代中药制剂教育部重点实验室, 江西中医学院, 南昌 330004)

摘要: 目的 建立同时测定心可舒片中 3种有效成分——葛根素、丹参酮ⅡA和熊果酸含量的 HPLC。方法 C_{18}色谱柱, 梯度洗脱, 流动相为乙腈-水(含 0.3%磷酸), 流速为 1.0 mL·min^{-1}, 柱温为 25 ℃, MWD 检测器。结果 葛根素、丹参酮ⅡA和熊果酸的线性范围分别为 52.6~262.8, 4.2~21.1和 20.5~102.6 μg·mL^{-1}, r值分别为 0.9997, 0.9999和 0.9997; 平均加样回收率分别为 100.63%, 97.08%和 96.92%, RSD分别为 1.4%, 1.3% 和 1.4%。结论 该方法准确, 操作简便, 又可降低质量检验成本, 可以用于心可舒片的质量控制。

关键词: 葛根素; 丹参酮ⅡA; 熊果酸; 心可舒片; HPLC

中图分类号: R917.101; R927.2 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2008)06-0536-04

The Simultaneous Determination of Three Major Bioactive Components in Xinkeshu Tablets by HPLC

LIAO Zheng-gen, ZHAO Guo-wei, LIANG Xin-li, WANG Guang-fa(*Key Laboratory of Modern Preparation of TCM, Ministry of Education, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang* 330004, *China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method for simultaneous determination of puerarin, tanshinoneⅡA and ursolic acid in Xinkeshu tablets as three major bioactive components. **METHODS** A C_{18} column was used. The chromatography was carried

作者简介: 廖正根, 男, 博士, 副教授 Tel: (0791)7119011 E-mail: lyzlyg@163.com

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net