

高效液相色谱法测定马来酸多潘立酮片的含量

易路遥^{1,2} 熊蔚^{1,2#}

(1 江西省药品检验检测研究院 南昌 330029; 2 江西省药品与医疗器械质量工程技术研究中心 南昌 330029)

摘要:目的:建立了高效液相色谱法测定马来酸多潘立酮片含量的方法。方法:使用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂的色谱柱,流动相为甲醇-0.5%乙酸铵(55:45),检测波长为 285 nm,流速 1 ml/min,柱温 30 ℃。结果:马来酸多潘立酮在 0.129 4~5.176 μg 呈良好线性关系,相关系数 r^2 为 0.999 99;加标回收率 98.21%~101.73%。结论:本法准确、可靠,可用于马来酸多潘立酮片的质量控制。

关键词:马来酸多潘立酮片;含量测定;高效液相色谱法

High Performance Liquid Chromatography Method for Determining the Content of Domperidone Maleate Tablets

YI Lu-yao^{1,2}, Xiong Wei^{1,2#}

(1Jiangxi Institute of Drug Control, Nanchang330029; 2Jiangxi Drug and Medical Devices Quality Engineering Center, Nanchang330029)

Abstract: Objective: To establish a method to determinate the content of domperidone maleate tablets by high performance liquid chromatography (HPLC). Methods: Using C18 column, the mobile phase was methanol-0.5% ammonium acetate (55:45), the detection wavelength was 285 nm, the flow rate was 1.0 ml/min, the temperature of column was set at 30 ℃. Results: Domperidone maleate in 0.129 4~5.176 μg showed a good linear relationship, the correlation coefficient r^2 was 0.999 99, the rate of recovery was 98.21%~101.73% of standard addition. Conclusion: This method is accurate and reliable, can be used for the quality control of domperidone maleate tablets.

Key words: Domperidone maleate tablets; Determination of content; HPLC

中图分类号:R927.2

文献标识码:B

doi:10.13638/j.issn.1671-4040.2016.10.044

马来酸多潘立酮化学名为 5- 氯 -1-[1-[3-(2- 氧代 -1,3- 二氢苯并咪唑 -1- 基) 丙基]-4- 哌啶基]-1,3- 二氢苯并咪唑 -2- 酮马来酸盐。马来酸多潘立酮片是外周多巴胺受体拮抗剂,可促进上胃肠道的蠕动和张力恢复正常,促进胃排空,增强胃窦和十二指肠运动,协调幽门的收缩,同时也能增强食道的蠕动和食道下端括约肌的张力。笔者承担了中国食品药品检定研究院委托的该品种标准转正工作,借标准转正之机,对含量测定的方法进一步提高。马来酸多潘立酮片有国家食品药品监督管理局标准(试行)YBH24812005 标准。美国药典、日本药局方和欧洲药典均未收载马来酸多潘立酮片等其它剂型,英国药典和欧洲药典收载多潘立酮和马来酸多潘立酮原料,其中英国药典(2013 年版)收载了多潘立酮片(以马来酸多潘立酮为原料)的质量标准, YBH24812005 标准针对马来酸多潘立酮片的含量测定是紫外-可见分光光度对照品法,而英国药典采用高效液相色谱法。考虑到紫外光谱法的专属性不如 HPLC,实验中也发现该药品的含量测定受到溶剂以及辅料等若干因素影响,故本文参考《中华人民共和国药典》^[1]“高效液相色谱法”及英国药典 2013 年版附录^[2]建立了马来酸多潘立酮片含量测定的高效液相色谱法。该方法简单快速、准确可靠、专属性。

通讯作者:熊蔚, E-mail: 1513476937@qq.com

1 试验部分

1.1 仪器与试剂 LC2010 高效液相色谱仪(日本岛津公司), AE163 电子天平(瑞士 Mettler 公司), BP211D 电子天平(德国 satorius 公司)。马来酸多潘立酮对照品(中检院,批号 100697-200401), 马来酸多潘立酮片(南京长奥制药有限公司,批号 100706、100607、081202、100404、100307), 甲醇为色谱纯, 盐酸、乙酸铵试剂均为分析纯, 水为自制高纯水。

1.2 色谱条件 色谱柱:用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以甲醇-0.5%乙酸铵(55:45)为流动相;检测波长为 285 nm;流速 1 ml/min;柱温 30 ℃。理论板数按多潘立酮峰计算不低于 3 000。

1.3 试验方法 供试品溶液:取本品 20 片,精密称定,研细,精密称取适量(约相当于多潘立酮 10 mg),置 100 ml 量瓶中,加 0.002 mol/L 盐酸:甲醇(1:1)超声 15 min 使溶解,冷却,加 0.002 mol/L 盐酸:甲醇(1:1)至刻度,滤过,取续滤液作为供试品溶液;对照品溶液:取 105 ℃干燥至恒重的马来酸多潘立酮对照品约 12.72 mg, 置 100 ml 量瓶中,加 0.002 mol/L 盐酸:甲醇(1:1)超声溶解,冷却,加 0.002 mol/L 盐酸:甲醇(1:1)稀释至刻度,作为对照品溶液。测定法:分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μl,注入液相色谱仪,记录色谱图;按外标法以峰面积计算,即得。

2 结果与讨论

2.1 线性试验 精密称取马来酸多潘立酮对照品 12.94 mg, 置 100 ml 瓶中, 加 0.002 mol/L 盐酸: 甲醇 (1: 1) 溶解并稀释至刻度, 摇匀, 分别量取 1、2、5、10、20、40 μ l 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 以进样量 (μ g) 为横坐标, 以峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 回归方程为: $Y=1\ 667\ 740X-40\ 470$, 相关系数 $r^2=0.999\ 99$ 。同时, 对照品溶液和供试品溶液的测定色谱图分别见图 1 和图 2。

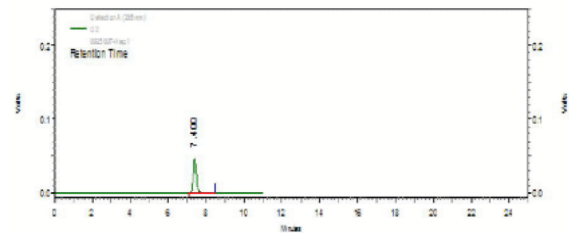


图 1 对照品溶液图谱

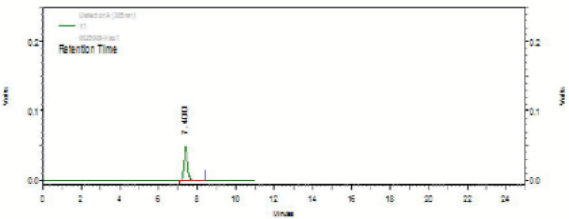


图 2 供试品溶液图谱

2.2 精密度试验 取[线性试验]考察项下的马来酸多潘立酮对照品溶液, 连续进样 6 次, 结果 RSD (%) 为 0.06%, 精密度试验结果良好。

2.3 重现性试验 取样品 (批号 100706), 按试验方法中供试品溶液配制, 平行配制 5 份, 分别进样, 测定, 结果 5 份供试品测定结果平均标示含量为 100.8%, RSD (%) 为 0.1%, 试样方法重现性良好。

2.4 稳定性试验 取样品 (批号 100706), 按试验方法中供试品溶液配制, 分别在 0、2、4、6、8、10、12 h 进样, 7 个时间点的测定结果 RSD (%) 为 0.11%, 试验方法所得供试品溶液在 12 h 内均较稳定。

2.5 回收率试验 取已知含量的样品 (批号 100706) 9 份, 分别加入不同量的对照品溶液, 按试验方法中供试品溶液配制, 进样, 测定结果见表 1。

表 1 回收率试验结果

序号	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	1.182	1.004	2.188	100.20	100.78	1.2
2	1.199	1.004	2.185	98.21		
3	1.192	1.004	2.211	101.49		
1	1.200	1.256	2.475	101.51		
2	1.195	1.256	2.465	101.11		
3	1.182	1.256	2.433	99.60		
1	1.202	1.507	2.735	101.73		
2	1.195	1.507	2.726	101.59		
3	1.203	1.507	2.734	101.59		

2.6 讨论

2.6.1 检测波长的选择 考察了马来酸多潘立酮对照品在三种溶液项下的紫外最大吸收值: 取马来酸多潘立酮对照品适量分别用甲醇、甲醇-0.5%乙酸铵 (30: 70)、甲醇-0.5%乙酸铵 (55: 45) 三种溶液溶解, 在 200~400 nm 处扫描, 结果表现均在 285 nm 处有最大吸收。

2.6.2 流动相的选择 英国药典与国内原料标准均采用甲醇-0.5%乙酸铵流动相系统, 在此基础上调整流动相比比例, 以取得合适的保留时间、对称因子、理论板数, 分别考察了马来酸多潘立酮样品在二种流动相下的峰形情况: 流动相一: 0→10 min, 甲醇: 0.5%乙酸铵 = (30: 70)→(100: 0); 10→12 min, 保持甲醇 100%。流动相二: 甲醇: 0.5%乙酸铵 = (55: 45)。在保证保留时间一致的情况下, 主要以峰面积、对称因子、理论塔板数为考察指标, 结果表明甲醇-0.5%乙酸铵 (55: 45) 峰形较好, 保留时间合适, 选用了甲醇-0.5%乙酸铵 (55: 45) 为流动相。

2.6.3 样品提取溶剂的选择 分别考察了三种提取溶剂在相同的超声提取情况下的提取效果, 取研细后本品约 0.1 g, 精密称定, 分别加入纯甲醇、甲醇-0.5%乙酸铵 (55: 45)、0.002 mol/L 和盐酸: 甲醇 (1: 1) 三种溶剂, 结果见图 3。根据图中结果可见, 三种溶剂效果基本一致, 由于标准中含量均匀度拟修订采用同样的方法, 而该薄膜衣片在纯甲醇中难以崩解, 故选择英国药典 0.002 mol/L 盐酸: 甲醇 (1: 1) 做为提取溶剂。

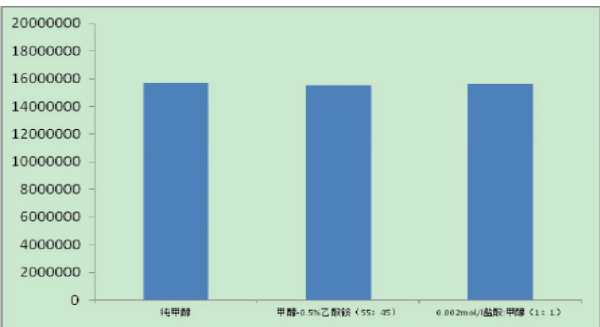


图 3 不同溶剂的提取效果

2.6.4 两种方法测定结果比较 高效液相法: 按试验方法中供试品溶液配制。紫外光谱法: 供试品溶液的制备: 取本品 20 片, 精密称定, 研细, 精密称取适量 (约相当于多潘立酮 50 mg), 置 100 ml 量瓶中, 加 40 ml 甲醇, 超声处理 10 min, 再振摇 10 min 使马来酸多潘立酮溶解, 用 0.1 mol/L 盐酸溶液稀释至刻度, 用 0.45 μ m 滤膜滤过, 取续滤液 2 ml 置 50 ml

量瓶中,用 0.1 mol/L 盐酸溶液稀释至刻度,摇匀,即得。对照品溶液的制备:取 105℃干燥至恒重的马来酸多潘立酮对照品约 12.72 mg,精密称定,置 100 ml 量瓶中,加 0.1 mol/L 盐酸适量,超声溶解,冷却,加 0.1 mol/L 盐酸稀释至刻度,摇匀,精密量取 5 ml,置 25 ml 量瓶中,加 0.1 mol/L 盐酸稀释至刻度,摇匀,即得。测定法:取上述对照品溶液与供试品溶液,照分光光度法(中国药典二部附录 IV A),在 284 nm 波长处分别测定吸收度,计算,即得。两种方法试验测定结果见表 2。拟建立的高效液相新方法与原紫外光谱方法结果无显著性差异。

表 2 两种含量测定方法试验结果

批号	HPLC 法	UV 法	标准规定
100706	100.6	100.2	90.0%~110.0%
100607	100.5	98.6	
081202	100.5	100.8	
100404	99.0	99.4	
100307	101.2	101.2	

3 结论

本文建立了高效液相色谱法测定马来酸多潘立酮片含量的方法,该方法采用甲醇-0.5%乙酸铵(55:45)作为流动相,0.002 mol/L 盐酸:甲醇(1:1)超声提取马来酸多潘立酮,经十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂的色谱柱分离,在检测波长为 285 nm 条件下测定,其线性范围、相关系数、方法精密度、稳定性、重现性及回收率等指标均符合分析检测的要求,并且操作方便,结果准确可靠,与原紫外测定方法测定结果无明显差异,且专属性及先进性均优于原方法,适用性更广,是标准提高改进的理想方法。

参考文献

[1]国家药典委员会.中华人民共和国药典(四部)[S].北京:中国医药科技出版社,2015.512
[2]British Pharmacopoeia Commission. 英国药典[S].British:TSO (The Stationery Office),2013.附录 III B,VIII L

(收稿日期:2016-09-16)

南丹参不同提取部位体外抗氧化活性比较*

李晶¹ 沈震亚² 陈超¹ 文萍^{1#}

(1 江西省中医药研究院 南昌 330046; 2 江中药业股份有限公司 江西南昌 330046)

摘要:目的:研究南丹参不同提取部位对 1,1-二苯基苦肟(DPPH)的清除能力,结合化学成分分析,初步揭示南丹参抗氧化药效物质基础。方法:用回流提取法、水煎煮提取法结合不同溶剂梯度萃取法制备南丹参 8 个不同提取部位,通过观察其对 DPPH 自由基清除能力测定南丹参提取部位的体外抗氧化活性,并结合 HPLC 化学成分分析揭示其抗氧化作用物质基础。结果:南丹参各提取物中 5 个提取部位均有不同程度的体外抗氧化活性,其中以水-萃取后水部位抗氧化效果最佳,其次为醇-水沉部位,按每克药材计 DPPH 清除量分别为 155.269 mg 和 109.305 mg。结论:通过对南丹参不同提取部位抗氧化活性能力比较结合 HPLC 成分分析,发现其主要抗氧化活性成分为其中所含的原儿茶醛、丹酚酸 B、丹参素钠和丹参酮 II A。

关键词:南丹参;提取部位;DPPH

中图分类号:R965

文献标识码:B

doi:10.13638/j.issn.1671-4040.2016.10.045

南丹参是江西省广泛分布的野生药用资源,收载于 2014 年版江西省中药材标准,为唇形科植物南丹参 *Salvia bowleyana* Dunn 的干燥根及根茎,具有祛瘀止痛、活血通经、清心除烦的功效^[1],在我国部分地区作为丹参的替代用药使用^[2]。郭巧茹等^[3]通过 1,1-二苯基苦肟(DPPH)清除法对南丹参不同器官的抗氧化能力进行了比较研究,发现酚酸类成分是南丹参抗自由基的主要活性成分。本次实验通过对南丹参药材各个提取部位进行抗氧化活性研究,从中筛选出 DPPH 清除能力强的活性部位并通过 HPLC 法对其抗氧化活性成分进行了鉴定。现报告如下:

1 材料

1.1 提取部位的制备

1.1.1 药材来源 南丹参药材采自江西省都昌县

* 基金项目:江西省自然科学基金青年基金项目(编号:20142BAB215065)

通讯作者:文萍, E-mail: 14834129@qq.com

武山镇武山林场(经度:116° 28'12.36", 纬度:29° 31'54.12"),原植物经我院虞金宝研究员鉴定为南丹参,采集后除去杂质,低温烘干,并粉碎成过 40 目筛的粉末,备用。

1.1.2 醇溶性各提取部位的制备 取南丹参药材粉末 20 g 置平底烧瓶中,加 6 倍量乙醇回流提取 2 次,每次 2 h,滤过,合并乙醇提取液,取适量稀释至药材含量为 0.4 g/ml, 备测, 剩余部分减压回收乙醇, 加纯净水稀释成药材含量为 1 g/ml 的混悬液,依次以等量石油醚(60~90℃)、乙酸乙酯、正丁醇梯度萃取 2 次,分别收集各部位及水沉部位。

1.1.3 水溶性各提取部位制备 取上述回流提取后的药渣,挥去乙醇加 6 倍量水煎煮提取 2 次,每次 2 h,滤过,合并水煎煮液,取适量稀释至药材含量为 0.4 g/ml, 备测, 剩余部分减压浓缩至药材含量 1