

别为 254, 237 nm, 通过比较两成分在两波长下的响应值、含量比例等因素, 最终选择检测波长为 254 nm。

参考文献

[1] 李勇. 2007 欧洲高血压指南——联合抗高血压药物治疗应成为普遍适用临床策略[J]. 心血管病学进展, 2007, 28(6): 847.

[2] 牛晓强, 赵亮. 高效液相色谱法测定苯磺酸氨氯地平片的含量及有关物质[J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27(11): 1534-1536.

[3] 耿仕霞, 李存福. 高效液相色谱法测定坎地沙坦酯片的有关物质及含量[J]. 药物鉴定, 2005, 14(6): 45-46.

DOI 10.3870/yydb.2012.09.032

高效液相色谱法测定熊果酸原料中有关物质含量

相延英¹, 金晓东¹, 张燕¹, 王腾², 张梦洁², 张长弓²

(1. 解放军第 161 医院药剂科, 武汉 430010; 2. 华中科技大学同济医学院药学院, 武汉 430030)

摘要 目的 建立高效液相色谱(HPLC)法测定熊果酸原料中的有关物质含量, 为制定其质量标准提供依据。方法 采用 Agilent XDB-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相为水相[水: 三乙胺: 冰醋酸(10: 0.03: 0.06)] 与甲醇系统, 梯度洗脱, 检测波长 210 nm, 柱温 30 ℃, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 进样量 20 μL。结果 熊果酸中齐墩果酸含量均 < 0.5%; 其他杂质均未检出。结论 该方法可以作为熊果酸原料中的有关物质的检查方法, 简便, 快速, 准确, 专属性好。

关键词 熊果酸; 齐墩果酸; 有关物质; 色谱法; 高效液相

中图分类号 R979.1; R927.2

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2012)09-1205-03

Determination of Related Substances in Raw Materials of Ursolic Acid by HPLC

XIANG Yan-ying¹, JIN Xiao-dong¹, ZHANG Yan¹, WANG Teng², ZHANG Meng-jie², ZHANG Chang-gong²
(1. Department of Pharmacy, the 161st Hospital of PLA, Wuhan 430010, China; 2. School of Pharmacy, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

ABSTRACT Objective To establish a method for determination of related substances of ursolic acid raw materials and provide the evidence for its quality control. **Methods** The chromatographic column was Agilent XDB-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm). The mobile phase consisted of methanol-water phase [water: triethylamine: glacial acetic acid (10: 0.03: 0.06)]. The gradient elution was applied as a chromatographic separation, and the detection wavelength was set at 210 nm. **Results** The oleanolic acid contained in the ursolic acid was less than 0.5%, and other impurities were not detected. **Conclusion** This method is simple, rapid, accurate and has a good specificity that can be used in checking the related substances in raw materials of ursolic acid.

KEY WORDS Ursolic acid; Oleanolic acid; Related substances; HPLC

熊果酸(ursolic acid)又名乌苏酸、乌索酸, 为五环三萜类化合物, 对人肝癌(SMMC-7721)等癌细胞均有明显抑制作用^[1]。注射用熊果酸正处于新药的临床实验阶段。根据注射用原料药有关物质的研究要求, 笔者建立了高效液相色谱(HPLC)法测定熊果酸的有关物质含量^[2-6], 现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 HITACHI L-7100 型高效液相色谱仪, HITACHI L-7420 型检测器, SEPU T2000P 色谱软件, ES-C600 天平(湘仪天平仪器厂), 超声波振荡仪(上

海 Branson)。

1.2 试剂 齐墩果酸对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 110709-200304), 熊果酸原料药(自制, 供临床实验用, 批号: 20090618, 20090624, 20090630), 甲醇(色谱纯), 水(三蒸水), 无水乙醇(分析纯), 三乙胺(分析纯), 冰醋酸(分析纯)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Agilent XDB-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 水: 三乙胺: 冰醋酸(10: 0.03: 0.06), 再与甲醇按梯度表中的比例混合(表 1)。测定波长: 210 nm; 柱温: 30 ℃; 流速: 1.0 mL·min⁻¹, 进样量: 20 μL。理论板数不低于 2 000, 熊果酸峰与相邻齐墩果酸杂质峰的分离度 > 1.5。

收稿日期 2012-01-03 修回日期 2012-03-24

作者简介 相延英(1967-), 女, 江苏赣榆人, 副主任药师, 硕士, 主要从事医院药学研究。电话: 027-50169115, E-mail: xyy2001@126.com。

表 1 流动相梯度

Tab.1 The mobile phase gradient %

成分	0 min	5 min	50 min	90 min
甲醇	79	79	87	89
水:三乙胺:冰醋酸	21	21	13	11

2.2 分析方法的验证

2.2.1 检测线与定量限 以信噪比为 3:1 作为最低检测限,测得齐墩果酸的最低检测限为 $2.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 以信噪比为 10:1 作为最低定量限,测得齐墩果酸的最低定量限为 $3.83 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.2.2 线性关系考察 精密量取齐墩果酸对照品适量,加溶剂[甲醇:水:三乙胺:冰醋酸(89:11:0.03:0.06)]分别制成每毫升中含齐墩果酸 3.83, 7.76, 14.74, 44.23, 66.35 μg 的系列对照溶液,每个浓度重复进样 3 次,每次 20 μL ,测得各峰面积。以齐墩果酸浓度为横坐标,峰面积(3 次进样的平均值)为纵坐标进行线性回归,回归方程: $Y = 7\,552.3X - 7\,926.7$, $r = 0.999\,6$ ($n = 5$)。表明齐墩果酸在 $4 \sim 66 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内峰面积与浓度线性关系良好。

2.2.3 精密度考察 精密量取齐墩果酸对照品适量,加溶剂(甲醇:水:三乙胺:冰醋酸,89:11:0.03:0.06)溶解并制成每毫升中含齐墩果酸 15.32 μg 的溶液,作为对照品溶液,连续进样 5 次,计算齐墩果酸峰面积的 RSD 为 1.39%。

2.2.4 重复性实验 取样品(批号:20090618),分别精密称取 5 份,加溶剂适量使溶解,制成每毫升含 1.9 mg 的溶液,作为供试品溶液,按上述色谱条件进行测定,测得齐墩果酸含量的 RSD 值为 1.12%,表明方法重复性良好。

2.2.5 稳定性考察 取“2.2.4”项下的供试品溶液,在不同时间(0, 2, 4, 6, 8 h)内进样,每次进样 20 μL ,测定齐墩果酸峰面积,结果 RSD 为 0.78%。表明溶液在 8 h 内稳定。

2.2.6 加样回收率实验 取已知齐墩果酸含量的熊果酸原料药(批号:20090618),精密称定,加溶剂溶解并制成齐墩果酸含量为 $4.96 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液,分成 3 组,分别精密加入一定量高、中、低 3 种剂量齐墩果酸对照品,制定浓度分别为 11.00, 9.95, 8.95 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的样品溶液,进样 20 μL ,各测定 3 次,取平均值,计算回收率,回收率在 99.7% ~ 100.8% 范围内。

2.3 影响因素 取熊果酸原料药(批号:20090618, 20090624, 20090630)测定其中齐墩果酸含量,将此样品作为以下影响因素实验的 0 d 样品。通过以下实

验,考察熊果酸原料药的性状和有关物质的变化。

2.3.1 高温实验 取 0 d 样品置于称量瓶中,将其开口置于适宜的密封洁净容器中,在 60 $^{\circ}\text{C}$ 温度下放置 10 d,定期取样(0, 5 和 10 d),检查有关考核指标。结果表明:随着加热时间的延长,样品的颜色及性状均无明显变化,经 HPLC 检测,降解产物、含量测定结果均无明显变化。可见在高温条件下,本品性质稳定。

2.3.2 高湿度实验 取 0 d 样品平铺于干燥洁净的称量瓶中,精密称重,然后将其开口置于相对湿度为 92.5% 的干燥器中(干燥器底部放置饱和硝酸钾水溶液),将干燥器在 25 $^{\circ}\text{C}$ 的环境中连续放置 10 d,定期取样(0, 5 和 10 d)检查有关指标并称定质量,据此测定样品的吸潮率。计算公式为:(实验后样品质量-实验前样品质量)/实验前样品质量 $\times 100\%$ 。结果表明:在高湿度条件下,随着放置时间的增加,样品吸潮率没有增加,样品仍为蓬松白色针状结晶,经 HPLC 检测,降解产物、含量测定结果没有明显变化。可见样品不具有吸湿性,不需密封防潮保存。

2.3.3 强光照射实验 取 0 d 样品单层平铺于干燥洁净的培养皿中,置于装有日光灯的光照箱内适宜高度,封好光照箱以防止尘埃进入光照箱,并使光照箱不受自然光的干扰,使照度为 $(4\,500 \pm 500) \text{ lx}$,连续照射 10 d,于第 5 天和第 10 天各取样 1 次,检查有关考核指标。结果表明:光照后,颜色及性状未发生改变,经 HPLC 检查,降解产物、含量测定结果没有明显变化。可见样品对光比较稳定。

2.3.4 酸碱破坏实验

2.3.4.1 酸破坏实验 取 0 d 样品置于离心管内,加 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的盐酸使 $\text{pH} = 2$,放置 120 min 后,以盐酸为空白做紫外扫描,检查有关考核指标。结果表明:在 $\text{pH} = 2$ 的条件下,样品不溶,经 HPLC 检测,降解产物、含量测定结果没有明显变化。可见熊果酸原料药在酸性条件下性质比较稳定。

2.3.4.2 碱破坏实验 氨水破坏实验:取 0 d 样品置于离心管内,加浓氨水至刻度,连续放置 120 min 后,以浓氨水为空白做紫外扫描,检查有关考核指标。结果表明:在弱碱性条件下,样品不溶,经 HPLC 检测,降解产物、含量测定结果没有明显变化。可见熊果酸原料药在弱碱性条件下性质比较稳定。
0.01 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠破坏实验:取 0 d 样品置于离心管内,加 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠至刻度,放置 120 min 后,以 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠为空白做紫外扫描,检查有关考核指标。结果表明:在 $\text{pH} 11 \sim 12$ 的碱性条件下,样品微溶,经 HPLC 检测,降解产物、含量测定结果没有

明显变化。可见熊果酸原料药在碱性条件下性质比较稳定。

2.3.5 氧化实验 取 0 d 样品置于离心管内,加 30% 过氧化氢至刻度,放置 120 min 后,以 30% 过氧化氢为空白做紫外扫描,检查有关考核指标。结果表明:在强氧化条件下,样品不溶,经 HPLC 检测,降解产物、含量测定结果没有明显变化。可见熊果酸原料药在强氧化条件下性质比较稳定。

2.4 齐墩果酸及其他有关物质的测定 精密量取齐墩果酸对照品适量,加溶剂[甲醇:水:三乙胺:冰醋酸(89:11:0.03:0.06)]溶解并制成每毫升中含齐墩果酸 15.32 μg 的溶液,作为对照品溶液,取 20 μL 进样测定,记录色谱图;另取本品熊果酸原料适量,精密称定,加溶剂适量使溶解,制成每毫升含 1.9 mg 的溶液,作为供试品溶液,同法测定。按外标法以峰面积计算齐墩果酸的含量,以面积归一化法计算其他有关物质的含量,批号为 20090618,20090624,20090630 样品中齐墩果酸含量分别为 0.35%,0.30%,0.32%,均未检出其他有关物质。

3 讨论

齐墩果酸为熊果酸的异构体,具有一定的疗效,且毒性很低,故熊果酸原料药中主要杂质齐墩果酸含量

暂定为<1.0%,其他杂质总量暂定为<0.5%。熊果酸浓度在 238~7 140 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 呈良好的线性关系。

以上影响因素实验均未发生颜色变化,通过 HPLC 检查,也未发现有任何新杂质出现,表明该原料药较稳定。

参考文献

- [1] 虞燕霞,顾振纶,殷江临,等.熊果酸对人肝癌 SMMC-7721 细胞周期的影响[J].苏州大学学报:医学版,2011,31(1):71-74.
- [2] 朱艳琴,杨俊,孙晓东,等.HPLC 测定山楂精降脂片中的齐墩果酸和熊果酸[J].光谱实验室,2011,28(5):2268-2271.
- [3] 黄秋妹,李宗.HPLC 法测定山楂中熊果酸和齐墩果酸的含量[J].海峡药学,2007,19(3):43-45.
- [4] 金小平,刘静幽,马丹,等.五鹤续断中熊果酸的含量测定[J].医药导报,2010,29(11):1481-1483.
- [5] 江丽,申国庆,龚春燕.HPLC 法同时测定复方痤疮胶囊中的齐墩果酸和熊果酸的含量[J].中国药师,2011,14(8):1140-1142.
- [6] 吴英俊,韩冬梅,武艳,等.高效液相色谱法同时检测蛇莓饮片齐墩果酸与熊果酸的含量[J].医药导报,2010,29(8):1069-1071.

DOI 10.3870/yydb.2012.09.033

不同基质配方对盐酸苯海拉明乳膏质量的影响

苗杰^{1,2},王爱武¹,王楠楠^{1,2},赫清雪^{1,2}

(1. 山东大学附属省立医院,济南 250021;2. 山东中医药大学,济南 250355)

摘要 目的 遴选最佳的盐酸苯海拉明乳膏配方。方法 调配 1~4 共 4 种不同基质配方乳膏剂,对乳膏剂进行外观检查、含量测定、稳定性实验及油粒度测定等多方比较。结果 处方 2 所配成的盐酸苯海拉明乳膏外观、稳定性及油粒度均优于处方 1,3,4。结论 处方 2 所配成的盐酸苯海拉明乳膏质量最为理想。

关键词 盐酸苯海拉明乳膏;基质配方;质量检查

中图分类号 R976;TQ460.6

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2012)09-1207-03

盐酸苯海拉明为抗过敏药物,能降低机体对组织胺反应,具有抗变态反应、止痒、消肿的作用。盐酸苯海拉明乳膏作为一种外用涂剂,可用于荨麻疹、过敏性皮炎及其他各种过敏性皮肤病,临床效果较好。文

收稿日期 2012-03-04 修回日期 2012-03-28

作者简介 苗杰(1989-),女,山东济南人,在读硕士。电话:(0)15169195462,E-mail:mj_ybyq@126.com。

通讯作者 王爱武(1966-),女,山东菏泽人,副主任药师,硕士生导师,研究方向:中药合理应用。电话:(0)15098709256,E-mail:wangaw66@163.com。

献及制剂手册中记载的乳膏剂的基质配方有很多,均为 O/W 型基质。笔者挑选出 4 种较好的 O/W 型乳膏剂处方,对其外观、稳定性等进行了多方面的比较,优选了处方,报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 TU-1901 紫外可见分光光度计(上海沪粤明科学仪器有限公司);BP211D 型电子天平(上海君达仪器仪表有限公司);800B 台式离心机(上海精密仪器仪表有限公司);DZF-6050 台式真空干燥箱(上海和呈仪器制造有限公司);实验室冰箱(北京福意电器