

超高效液相色谱法测定曲匹布通含量*

罗雨阳,朱跃芳[△],石文松,陈阳桔

(湖南省株洲市食品药品检验所,湖南 株洲 412000)

摘要:目的 建立测定曲匹布通含量的超高效液相色谱(UPLC)法。方法 色谱柱采用 Waters Atlantis® T₃ 柱(100 mm×2.1 mm, 3 μm),流动相为 0.01 mol/L 的醋酸钠溶液(用冰醋酸调节 pH 至 3.0)-甲醇(40:60),流速为 0.5 mL/min,柱温为 35℃,用 DAD 检测器检测,以保留时间定性,在 271 nm 波长下测定曲匹布通的含量。结果 曲匹布通质量浓度在 0.100 04~1.000 40 g/L 范围内与峰面积线性关系良好, $r=0.999\ 92$ ($n=5$);平均回收率为 99.89%, RSD 为 0.61% ($n=9$)。结论 该方法准确、高效,可用于曲匹布通的含量测定。

关键词:超高效液相色谱法;曲匹布通;含量

中图分类号:R927.2;R975+.5

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2018)21-0040-03

Content Determination of Trepibutone by UPLC

Luo Yuyang, Zhu Yuefang, Shi Wensong, Chen Yangju

(Zhuzhou Institute for Food and Drug Control, Zhuzhou, Hunan, China 412000)

Abstract: Objective To establish an UPLC method for content determination of trepibutone. **Methods** The Waters Atlantis® T₃ column (100 mm×2.1 mm, 3 μm) was adopted, the mobile phase was 0.01 mol/L sodium acetate (adjusted pH to 3.0 by phosphoric acid)-methanol(40:60), the flow rate was 0.5 mL/min, and the column temperature was 35℃. DAD detector was used to detect, the qualitative analysis was carried out based on the retention time, and the content of trepibutone was determined at the wavelength of 271 nm. **Results** The linearity of peak area was good when the content of trepibutone was in the range of 0.100 04-1.000 40 g/L, $r=0.999\ 92$ ($n=5$), the mean recovery rate was 99.89%, RSD was 0.61% ($n=9$). **Conclusion** This method is accurate and efficient, which can be used for the content determination of trepibutone.

Key words: UPLC; trepibutone; content

曲匹布通为利胆药,可松弛胆道括约肌,降低胆管内压,促进胆汁和胰液的排放,使胆总管胆汁充盈,且有解痉镇痛及利胆消炎的作用^[1-2]。曲匹布通质量标准收载于化学药品地方标准上升国家标准第四册^[3],《中国

药典》暂无收载。现行曲匹布通国家标准中含量测定采用容量法^[4],该方法较烦琐,取样量大,且制剂辅料严重干扰终点的判断,专属性较差。目前,曲匹布通含量的检测方法主要有容量法、紫外法^[5]和高效液相色谱法^[6-13]。

*基金项目:湖南省食品药品监督管理局食品药品安全科技项目[湘食药科 2016033]。

第一作者:罗雨阳,女,硕士研究生,工程师,研究方向为食品药品检验,(电子信箱)luoyuyangcx@163.com。

[△]通信作者:朱跃芳,女,大学本科,副主任药师,研究方向为食品药品检验,(电子信箱)1061582981@qq.com。

- 品标准[S].
- [3] 李瑞林. 雷公藤临床安全合理运用经验[J]. 中国中西医结合杂志,2002,22(8):567-568.
- [4] 周玉芬,顾正平,浦海英. 雷公藤多苷片致急性肝功能损害 1 例[J]. 中国临床药理学杂志,2002,11(5):301.
- [5] 路敏,周颖,崔一民,等. 雷公藤多苷致闭经[J]. 药物不良反应杂志,2014,16(3):177-178.
- [6] 张蜀英. 雷公藤多苷片导致卵巢早衰 2 例报告[J]. 四川医学,1995,16(3):191.
- [7] 陆晓和,陈巧云,钟荷娣,等. 雷公藤多苷片致急性粒细胞减少症 9 例[J]. 中国医院药学杂志,1993,13(12):559.
- [8] 杨巍巍. 雷公藤多苷致严重血小板减少 1 例[J]. 中国临床药理学杂志,2000,9(3):189.
- [9] 杨书彦,高桂凤,马丽. 雷公藤多苷致面部红斑伴粒细胞减少 1 例[J]. 中国医院药学杂志,1998,18(7):333.
- [10] 郭晓宁. 雷公藤多甙治疗关节病型银屑病发生纵膈淋巴瘤一例[J]. 中华皮肤科杂志,1991,24(2):135.
- [11] 陈耀. 雷公藤多甙片致听力减退 1 例[J]. 华西药理学杂志,1997,12(3):158.
- [12] 田小荪. 雷公藤多甙片致复视 1 例[J]. 现代应用药理学,1993,10(5):64.
- [13] 郝向春. 口服雷公藤多甙片出现多形性红斑药疹 1 例[J]. 中国中药杂志,2003,18(3):182.
- [14] 柯坤宇. 雷公藤多苷片引起肝损害一例报告[J]. 实用临床医学杂志,2009,10(7):40-42.
- [15] 周炎仪,黄捷仪,李静玲,等. 雷公藤制剂的用药安全性分析[J]. 临床合理用药,2012,5(8B):120.
- [16] 印成霞. 55 例雷公藤多甙片/雷公藤多苷片致不良反应文献分析[J]. 中国药物警戒,2013,10(8):478-482.

(收稿日期:2018-06-17)

本研究中建立了超高效液相色谱(UPLC)DAD 检测器测定曲匹布通含量的分析方法^[14-15],经方法学论证,结合大量样品(包括国外原研制剂和国内仿制药)分析数据,证实方法简单、快速、准确,能为曲匹布通的质量控制提供一定的参考。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 1290 型超高液相色谱仪,配备 DAD 检测器,Chemstation 数据处理系统(美国安捷伦公司);KQ5200DE 型超声波清洗器(昆山舒美超声仪器有限公司)。

1.2 试剂

曲匹布通原料药(湖南千金湘江药业股份有限公司,批号分别为 20160504,20160505,20170101);曲匹布通片(湖南千金湘江药业股份有限公司,批号分别为 150501,160501,161101,171001,规格为每片 40 mg);曲匹布通片(日本大原药品工业株式会社,批号分别为 HH88,KF93,规格为每片 40 mg);曲匹布通对照品(中国食品药品检定研究院,批号为 100439-200301);甲醇(色谱纯,美国 Fisher 公司);冰醋酸、醋酸钠试剂(分析纯,国药集团);水为实验室自制超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

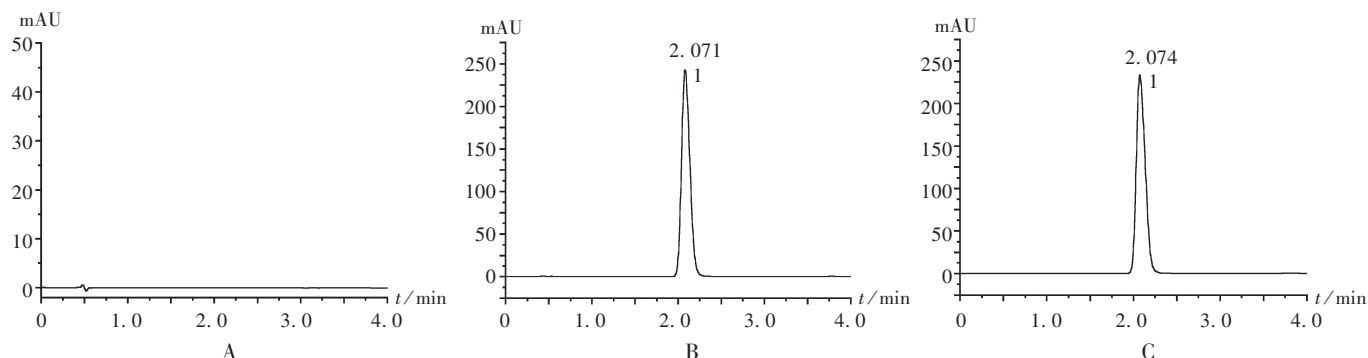
色谱柱:Waters Atlantis® T₃ 柱(100 mm×2.1 mm, 3 μm);流动相:0.01 mol/L 醋酸钠溶液(用冰醋酸调节 pH 至 3.0)-甲醇(40:60);流速:0.5 mL/min;进样量:1 μL;柱温:35℃;DAD 检测器扫描波长:190~400 nm;检测波长:271 nm。

2.2 溶液制备

取曲匹布通片辅料 41.9 mg,精密称定,置 50 mL 容量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,作为阴性对照品溶液。取曲匹布通对照品 12.5 mg,精密称定,置 25 mL 容量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。另取曲匹布通样品(批号为 170101) 25.1 mg,精密称定,置 50 mL 容量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

2.3 方法学考察

专属性试验:取 2.2 项下 3 种溶液分别进样,结果曲匹布通供试品溶液与对照品溶液色谱峰保留时间均为 2.07 min,两者 DAD 扫描光谱图一致,且阴性对照品溶液在相应保留时间处无明显色谱峰,表明辅料不干扰样品测定。色谱图见图 1。



1. 曲匹布通

A. 阴性对照品溶液 B. 对照品溶液 C. 供试品溶液

图1 超高效液相色谱图

线性关系考察:取曲匹布通对照品 25.01 mg,精密称定,置 10 mL 容量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀,分别取 0.4,0.8,1.2,2.0,4.0 mL 置 5 个 10 mL 容量瓶中,用流动相稀释成质量浓度分别为 0.100 04,0.200 08,0.300 12,0.500 20,1.000 40 g/L 的系列溶液,按拟定色谱条件测定,记录色谱图。以曲匹布通的峰面积(Y)对质量浓度(X,g/L)绘制标准曲线,得线性方程 $Y=3267.00377X+25.157508$, $r=0.99992$ ($n=5$)。表明曲匹布通质量浓度在 0.100 04~1.000 40 g/L 范围内与峰面积线性关系良好。

重复性试验:取曲匹布通原粉(批号为 20160504)及曲匹布通片(批号为 150501),各 6 份,进行重复性试

验,以精密度试验结果计算对照品含量,曲匹布通原粉含量均值为 100.70%,RSD 为 0.5% ($n=6$),曲匹布通片含量均值为 100.75%,RSD 为 0.5% ($n=6$),表明方法重复性良好。

精密度试验:取同一曲匹布通对照品溶液,在 271 nm 波长处连续进样 5 次。结果的 RSD 为 0.3% ($n=5$),表明仪器精密度较好。

加样回收试验:取曲匹布通原料(批号为 170101) 9 份,按湖南千金湘江药业股份有限公司处方添加相应的空白辅料,配制成曲匹布通低、中、高 3 个质量浓度的溶液,另取同批号曲匹布通原料 2 份,配制成相应浓度的对照品溶液,按外标法计算回收率。结果见表 1。

表1 曲匹布通加样回收试验结果($n=9$)

加入量(g)	测得量(g)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)
0.009 84	0.009 77	99.29		
0.010 11	0.010 07	99.60		
0.009 95	0.009 86	99.10		
0.012 83	0.012 86	100.23		
0.012 63	0.012 74	100.87	99.89	0.61
0.012 65	0.012 74	100.71		
0.015 79	0.015 73	99.62		
0.015 59	0.015 57	99.87		
0.015 64	0.015 59	99.68		

耐用性试验:取同一批(批号为171001)供试品溶液,分别用色谱柱 Waters Atlantis® T₃ 柱(100 mm × 2.1 mm, 3 μm), Zorbax RRHD Extend - C₁₈ 柱(50 mm × 2.1 mm, 1.8 μm), Agela Venusil MP C₁₈ 柱(33 mm × 4.6 mm, 3 μm),按拟订色谱条件进行测定。结果显示,使用不同色谱柱曲匹布通含量测定结果基本一致,结果的 RSD 为 1.1% ($n=6$),表明试验耐用性良好。

稳定性试验:取同一批(批号为20160505)供试品溶液,按拟订色谱条件分别在配制后 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18 h 时进样。结果显示,曲匹布通峰面积的 RSD 为 0.7% ($n=8$),表明供试品溶液在 18 h 内稳定。

2.4 样品含量测定

取曲匹布通供试品约 25 mg,精密称定,置 50 mL 容量瓶中,加流动相溶解(必要时超声)并稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液,精密量取 1 μL 注入液相色谱仪,记录色谱图;另取曲匹布通对照品适量,同法测定。按外标法以峰面积计算,即得。同时对 3 批曲匹布通原粉、6 批曲匹布通片进行检测,其含量测定结果见表 2。

表2 样品含量测定结果(%, $n=9$)

批号	UPLC 法	滴定法	批号	UPLC 法	滴定法
20160504	100.34	100.42	161101	99.62	100.65
20160505	100.46	100.99	171001	100.96	101.11
20170101	99.86	99.32	HH88	99.90	100.69
150501	99.93	101.08	KF93	100.71	100.88
160501	100.82	101.05			

3 讨论

3.1 色谱条件优化

曲匹布通易溶于甲醇,难溶于水,故采用甲醇-水的流动相体系,但此体系下曲匹布通主峰有拖尾现象。参考文献[11],引入缓冲盐能改善峰形,醋酸盐缓冲体系能较好地解决曲匹布通峰拖尾问题,故采用醋酸钠溶液作为缓冲溶液。考察不同流动相 pH 对峰型的影响,结果 pH 为 3.0 时,出峰时间适宜,峰形较好。同时,考察了不同流速对出峰时间的影响,结果流速为 0.5 mL/min

时,曲匹布通出峰时间为 2.07 min,且无杂质峰干扰,故选择流速 0.5 mL/min。考察不同进样量的影响,结果进样量为 1~5 μL 时,曲匹布通峰形均较好,为保护色谱柱,延长色谱柱的使用周期,采用 1 μL 作为进样量。

3.2 最佳检测波长选择

根据试验要求,将曲匹布通与流动相结合,用 DAD 检测器进行全波长扫描,考察最佳检测波长,波长为 235 nm 时曲匹布通峰面积响应值最大,但考虑存在末端吸收的情况,最终确定曲匹布通检测波长为 271 nm。

3.3 对照品选择

目前,曲匹布通对照品为供紫外检测法检查溶出度用的对照品,用国家标准中的滴定法进行测定,其含量低于湖南千金湘江药业股份有限公司提供的原料,故选择企业提供的原料(批号为170201)作为含量测定的对照品。

参考文献:

- [1] 刘传金. 探讨口服曲匹布通片对超声诊断胆总管结石的应用价值[J]. 海峡药学, 2005, 23(12): 194-195.
- [2] 吴瑶瑶, 宋玲, 龚明. 口服曲匹布通片提高超声对胆总管结石检出率的探讨[J]. 中国超声医学杂志, 2008, 24(7): 635-637.
- [3] WS-10001-(HD-0325)-2002, 国家药品标准·化学药品地方标准上升国家标准[S].
- [4] 陈乃江, 杨颖. 容量法测定曲匹布通片含量的不确定度评定[J]. 黑龙江医药, 2015, 28(1): 71-72.
- [5] 陈乃江, 杨颖, 李玲. 紫外法测定曲匹布通片含量的不确定度评定[J]. 医药前沿, 2015, 5(35): 363-364.
- [6] 牛剑钊, 周征, 魏京京. HPLC 法测定曲匹布通含量及有关物质[J]. 药物分析杂志, 2005, 25(1): 61-63.
- [7] 李锐. 高效液相色谱法测定曲匹布通片的含量[J]. 中国药业, 2007, 16(4): 36-37.
- [8] 朱跃芳, 刘海斌, 易颖. 高效液相色谱法测定曲匹布通片含量及溶出度[J]. 中国医疗前沿, 2007(6): 92-93.
- [9] 汪杰. 高效液相色谱法测定曲匹布通片中曲匹布通含量[J]. 药物鉴定, 2010, 29(20): 32-33.
- [10] 张娜, 牛秀华, 岳志华, 等. HPLC 法测定曲匹布通片的含量及有关物质[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(11): 1903-1905.
- [11] 孙春艳, 赵亚萍, 陈宁林, 等. HPLC 测定曲匹布通片的含量与有关物质[J]. 中国现代应用药学, 2015, 32(8): 976-979.
- [12] 徐明凤, 姜红, 刘晨曦, 等. 曲匹布通片的溶出特性[J]. 医药导报, 2016, 35(4): 397-399.
- [13] 李姮. 用高效液相色谱法测定曲匹布通片溶出度的效果探析[J]. 当代医药论丛, 2016, 14(23): 8-9.
- [14] 霍玉荣. 超高效液相色谱法在药物分析中的应用进展[J]. 首都食品与药品, 2016, 25(10): 25-26.
- [15] 甘宾宾, 蔡卓, 蒋世琼. 超高效液相色谱在现代分析检验中的应用进展[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(5): 955-957.

(收稿日期:2018-05-11)