

# 葡醛内酯片质量标准的研究

刘珊珊<sup>1</sup>, 黄冬梅<sup>2</sup>, 韦维<sup>3</sup> (1. 广西柳州食品药品检验所, 广西 柳州 545001; 2. 广西中医学院药学院 2000 级实习生, 广西 南宁 530001; 3. 桂林医学院药学院 2000 级实习生, 广西 桂林 541001)

**摘要:** **目的** 改进葡醛内酯片的鉴别反应, 建立有效地葡醛内酯片定性定量检测方法。 **方法** 采用排除法分析葡醛内酯片鉴别反应的影响因素; 采用以对羟基苯甲酸乙酯为内标的 HPLC 法进行含量测定, 色谱柱: CLC-ODS (6.0mm × 150mm, 5 $\mu$ m), 甲醇-水 (65:35) 为流动相, 流速 1.0mL · min<sup>-1</sup>, 检测波长 221nm, 柱温 40℃。 **结果** 改进的鉴别法重现性好, 实验结果容易判断, 避免了结论误判; 葡醛内酯在 0.5025 ~ 6.030mg · mL<sup>-1</sup> 范围内线性关系良好,  $r = 0.9999$ , 平均回收率为 99.8%, RSD 为 0.44%。 **结论** 本法准确、可靠地进行定性定量检测, 能有效控制葡醛内酯片质量。

**关键词:** 葡醛内酯片; 鉴别; 改进; 含量测定; 高效液相色谱法

中图分类号: R975.5

文献标识码: A

文章编号: 1007-7693(2006)08-0793-03

LIU Shan-shan<sup>1</sup>, HUANG Dong-mei<sup>2</sup>, WEI Wei<sup>3</sup> (1. Liuzhou Institute for Food and Drug Control, Liuzhou 545001, China; 2. 2000 Year's Medicine College Trainee of Guangxi Chinese Traditional Medical College, Nanning 530001, China; 3. 2000 Year's Medicine College Trainee of Guangxi Guilin Medical College, Guilin 541001, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish qualitative and quantitative methods for the quality control of goucurolactone tablets. **METHODS** Goucurolactone in the tablets were identified by the improvement, and the content was determined by HPLC with Ethyl p-hydroxy benzoate for the internal standard. A CLC-ODS (6.0mm × 150mm, 5μm) column was used with mobile phase of CH<sub>3</sub>OH-H<sub>2</sub>O (65:35) and flow rate of 1.0mL · min<sup>-1</sup>. The detection wavelength was set at 221nm and the column temperature at 40℃. **RESULTS** The improve identify and determination were accurate. Goucurolactone showed a good linear relationship at a range of 0.5025 ~ 6.030mg · mL<sup>-1</sup> (r = 0.9999). The average recovery was 99.8% and RSD was 0.44%. **CONCLUSION** The method is simple, specific and accurate. They can be used for qualitative control of the tablets. **KEY WORDS:** Glucuro lactone tablets; identify; improve; assay; HPLC

葡醛内酯片(俗称肝泰乐片、肝太乐片)为肝脏疾病辅助用药,因毒副作用小,有保肝解毒作用,临床上常用于急性慢性肝炎,肝硬化,药物中毒等症。葡醛内酯在水溶液中,部分内酯转变成葡萄糖醛酸,使溶液呈酸性,故不同版本的药品标准<sup>[1-2]</sup>均采用酸碱中和剩余滴定法测定该片剂含量,而对其鉴别则采用经典的单糖缩合显色反应。作者在实际检验工作中发现,有些市售药品与标准规定要求(应显暗绿色)不符,致使鉴别试验不呈正反应(显红棕色);但用专属性较差的酸碱中和剩余滴定法测定其含量,结果均符合规定。为此,本文用 HPLC 法确证,对其鉴别反应影响因素进行探讨和改进;并以对羟基苯甲酸乙酯为内标,用 HPLC 法对葡醛内酯进行含量测定。结果方法灵敏、准确、重复性好,可用于本品的质量控制。

## 1 仪器与试剂

美国 PE 公司 LC-250 型高效液相色谱仪,LC-295 紫外可见光谱检测器;HW-2000 色谱工作站(南京千谱软件有限公司)。

葡醛内酯对照品(HPLC 归一化法含量 99.8%, 20000214)由江苏天士力帝益药业有限公司提供;对羟基苯甲酸乙酯(分析纯,020301)购于广东台山新宁制药厂;葡醛内酯片 I(广东南国药业有限公司 040401)、II(山东方明药业股份有限公司 030323)、III(江苏天士力帝益药业有限公司 200309021)、IV(江苏淮阴华新药业有限 20000706)、V(山西省大同云岗制药厂 20030301)、VI(武汉武警制药厂 20010326)、VII(武汉武警制药 990401)、VIII(山西省忻州市云中制药厂 20000122)、IX(山西省忻州市云中制药厂 991202)、X(药都制药集团股份有限公司 031210)、XI(药都制药集团股份有限公司 031208)均为本所抽验检品。甲醇为色谱纯,水为重蒸水,其它试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 鉴别

葡醛内酯与浓盐酸煮沸后,即脱水生成糠醛衍生物,再与 3,5-二羟基甲苯溶液作用,即生成绿色缩合产物。针对一

些市售药品鉴别不呈正反应(显红棕色)的情况,对其影响因素进行逐一排查和确定。

**2.1.1 HPLC 法确证** 取样品适量,按 2.2 含量测定项下色谱条件和方法试验,鉴别呈正反应(显暗绿色)和不呈正反应(显红棕色)的样品主峰保留时间均与葡醛内酯对照品主峰保留时间一致。证明 2 种样品确是同一种物质,提示原鉴别反应存在误判的可能。**2.1.2 辅料的影响** 取不含葡醛内酯的阴性样品适量,按药品标准方法<sup>[1-2]</sup>制成 10% 的阴性样品溶液,依法进行鉴别试验,结果显浅黄色。辅料对反应无影响。

**2.1.3 试剂量的影响** 取鉴别不呈正反应的 10% 样品滤液 1ml,加入两倍量 3,5-二羟基甲苯试液,依法操作,仍不呈正反应(显红棕色),说明反应与试剂量无关。

**2.1.4 样品浓度的影响** 取鉴别反应呈正反应和不呈正反应的样品适量,制成 10%、0.1%、0.01% 浓度溶液,过滤,分别取滤液 1ml,按葡醛内酯片鉴别项下方法试验。结果呈正反应的样品各浓度均显暗绿色;不呈正反应的样品,高浓度(10%)显红棕色,低浓度(0.1%、0.01%)显暗绿色,但以 0.1% 样品溶液呈色稳定。

由以上系列试验可得出结论,样品浓度是反应的关键。将样量降低 100 倍,制成 0.1% 的样品溶液,即可有效地避免各药检部门在葡醛内酯片质量检验中出现的假阴性结果。

### 2.2 含量测定

**2.2.1 色谱条件** 色谱柱:CLC-ODS(6.0 × 150mm, 5μm);流动相:甲醇-水(65:35);流速:1.0mL · min<sup>-1</sup>;检测波长:221nm;柱温:40℃;进样量:20μL。在上述色谱条件下,理论板数以葡醛内酯计不低于 3000;葡醛内酯和内标物的保留时间分别为 2.8min 和 5.9min,二者分离度大于 2.0。

**2.2.2 线性关系考察** 精密称取葡醛内酯对照品适量,加流动相制成每 1mL 含 10.05mg 的对照品溶液;精密称取对羟基苯甲酸乙酯适量,用流动相制成每 1mL 含 0.8022mg 的内标溶液。精密量取对照品溶液 0.5、1.5、3.0、4.5、6.0mL,分别置 10mL 量瓶中,各加入内标溶液 1.0mL,用流动相稀释至

刻度,混匀。在上述色谱条件下,分别进样 20μL,记录色谱图,以对照品峰面积与内标峰面积的比值对进样浓度进行线性回归( $n = 6$ ),回归方程为  $Y = 0.02615 + 0.2227X, r = 0.9999$ 。结果表明葡醛内酯浓度在 0.5025 ~ 6.030mg · mL<sup>-1</sup> 范围内与峰面积线性关系良好。

**2.2.3 精密度试验** 取同一供试品溶液重复进样 6 次(每次 20μL)进行测定,结果葡醛内酯峰面积与内标峰面积比值的平均值为 0.6047, RSD 为 0.43%。

**2.2.4 重复性试验** 取葡醛内酯片 X 号样品 6 份,每份约含葡醛内酯 0.15g,分别精密称定,照 2.2.8 项下方法制备供试品溶液,同法进行含量测定。结果含量平均值为 98.6%, RSD 为 0.52%。

**2.2.5 稳定性试验** 分别于 0,1,4,8,12,24h,取 2.2.8 项下同一供试品溶液 20μL,进样,测定对照品与内标峰面积比值的 RSD 为 1.4%,表明供试品溶液稳定性良好。

**2.2.6 加样回收率试验** 取已知含量的 IV 号样品(约含葡醛内酯 50mg),共 9 份,精密称定,置 25mL 量瓶,3 份为一组,分别精密加入 2.2.2 项下葡醛内酯对照品溶液(10.05mg · mL<sup>-1</sup>)6.0、7.5、9.0mL,按 2.2.8 项下的方法处理、测定,葡醛内酯平均回收率为 99.8% ( $n = 9$ ), RSD 为 0.44%。结果见表 1。

表 1 葡醛内酯的加样回收率

Tab 1 Recovery rate of Glucurrolactone

| 序号 | 称样量<br>/mg | 含量<br>/mg | 加入量<br>/mg | 测得量<br>/mg | 回收率<br>/% |
|----|------------|-----------|------------|------------|-----------|
| 1  | 55.25      | 50.34     | 60.30      | 110.25     | 99.35     |
| 2  | 55.50      | 50.68     | 60.30      | 111.26     | 100.46    |
| 3  | 54.75      | 49.89     | 60.30      | 110.02     | 99.72     |
| 4  | 55.05      | 50.16     | 75.38      | 125.65     | 100.15    |
| 5  | 55.62      | 50.68     | 75.38      | 125.42     | 99.15     |
| 6  | 55.94      | 50.97     | 75.38      | 125.98     | 99.51     |
| 7  | 54.92      | 50.04     | 90.45      | 140.66     | 100.19    |
| 8  | 55.82      | 50.86     | 90.45      | 140.80     | 99.44     |
| 9  | 55.67      | 50.73     | 90.45      | 141.02     | 99.82     |

**2.2.7 阴性样品试验** 取不含葡醛内酯和不加内标的阴性样品,按 2.2.8 项下的方法处理、测定,结果在与葡醛内酯和内标物保留时间处均无干扰峰出现,表明处方中其他辅料剂对测定结果无影响。

也曾分别对葡醛内酯和内标物进行了干扰试验,结果葡醛内酯对照品在内标峰处、内标物在葡醛内酯峰处均无干扰峰出现,说明内标物对测定无影响。

**2.2.8 样品测定** 取供试品细粉适量(相当于葡醛内酯 75mg),精密称定,置 25mL 量瓶中,加流动相适量,振摇使葡醛内酯溶解后,精密加入内标溶液 2.5mL,并用流动相稀释至 25mL,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液。依 2.2.1 色谱条件进行 HPLC 检测,以标准曲线计算样品中葡醛内酯含量。结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果(标示量%,  $n = 5$ )

Tab 2 The content of glucurrolactone in samples( labeled amount%,  $n = 5$ )

| 样品编号 | 鉴别 | 高效液相色谱法 | RSD/% | 药典法    | RSD/% |
|------|----|---------|-------|--------|-------|
| I    | +  | 95.21   | 0.53  | 100.64 | 0.20  |
| II   | +  | 91.85   | 0.85  | 95.54  | 0.37  |
| III  | +  | 91.99   | 0.87  | 98.22  | 0.19  |
| IV   | +  | 91.12   | 0.65  | 96.44  | 0.30  |
| V    | +  | 91.24   | 0.72  | 97.76  | 0.39  |
| VI   | +  | 91.50   | 0.66  | 95.49  | 0.40  |
| VII  | -  | 92.95   | 0.58  | 95.56  | 0.28  |
| VIII | -  | 92.40   | 0.55  | 98.49  | 0.07  |
| IX   | -  | 91.51   | 0.77  | 99.94  | 0.44  |
| X    | -  | 98.60   | 0.52  | 100.46 | 0.10  |
| XI   | -  | 96.35   | 0.62  | 100.20 | 0.20  |

注:“+”呈正反应(显暗绿色);“-”不呈正反应(显红棕色)  
Note:“+”present positive reaction(present colour Darkgreen);“-”present negative reaction(present colour Redbrown)

3 讨论

**3.1 葡醛内酯片药品标准**<sup>[1,2]</sup> 仅有一个化学鉴别反应,不呈正反应就无法判断其真伪。作者对辅料、试剂量和样品浓度的干扰试验表明,样品浓度是鉴别反应的关键。将取样量降低 100 倍,制成 0.1% 的供试品溶液,即可有效避免各药检部门在葡醛内酯片质量检验中出现的假阴性结果。故建议①修改本品的取样量,使其化学鉴别反应准确无误;②增加 HPLC 辅助鉴别项。

**3.2 药品标准**<sup>[1,2]</sup> 采用酸碱中和和剩余滴定法测定葡醛内酯含量,该法测定的是葡醛内酯的水解产物葡萄糖醛酸,专属性较差,且操作中对温度控制条件要求苛刻,如温度稍高,则会引起含量偏高,造成较大误差。HPLC 法排除了葡醛内酯水解产物的影响,测定的是葡醛内酯化合物的真实含量,方法简便、快速、准确可靠,可用于该制剂的质量控制。比较两种方法含量测定结果(见表 2),滴定法测得的结果均较 HPLC 法高,这一事实也表明滴定法可能无法将葡醛内酯的部分水解产物分离,而引起结果误差。

**3.3 为避免流动相在色谱分析中出现干扰峰**,直接选用流动相作为溶剂。但葡醛内酯易溶于水,难溶于醇,故溶解样品时,应按醇水比例先加水使葡醛内酯溶解后,再加醇至刻度。

**3.4 检测波长的选择** 取葡醛内酯对照品适量,加流动相溶解,并稀释制成约 1mg · mL<sup>-1</sup> 的溶液,于 200 ~ 400nm 波长范围内扫描,结果本品在 221nm 波长处有末端吸收,故选择 221nm 作为测定波长。

参考文献

[1] Chp(中国药典)1995. Vol II(二部):856.  
[2] Drug Specifications Promulgated by the Ministry of Public Health (卫生部药品标准). Vol 4(第四册). 1995. 99.

收稿日期:2006-06-18