

- derivatives [J]. Eur J Med Chem, 2009, 44(7), 3068-3076.
- [9] SASHIDHARA K V, AVULA S R, MISHRA V, et al. Identification of quinoline-chalcone hybrids as potential antiulcer agents [J]. Eur J Med Chem, 2015(89), 638-653.
- [10] WANG Y CHAN F L, CHEN S, et al. The plant polyphenol butein inhibits testosterone-induced proliferation in breast cancer cells expressing aromatase [J]. Life Sci, 2005, 77(1), 39-51.
- [11] XU Y, GAO X. Influence of the medication administration sequence of docetaxel and epirubicin on the therapeutic effect during chemotherapy for breast cancer [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2015, 32(6), 39-51.
- [12] CHEN W M, GUO H X. The effect of substituted groups in benzene ring on the condensation reaction of acetophenones with benzaldehydes [J]. Chin J Synthetic Chem(合成化学), 1999, 7(4), 422-426.
- [13] MULLER P K, MOLTON M N. The determination and interpretation of the therapeutic index in drug development [J]. Nat Rev Drug Discov, 2012, 11(10): 751-761.
- 收稿日期: 2015-09-02

双波长 HPLC 同时测定复方红花喷雾剂中羟基红花黄色素 A 与绿原酸的含量

汤秋华, 林辉*, 张一帆, 黄祥昌(福建医科大学附属泉州第一医院, 福建 泉州 362000)

摘要: 目的 建立同时测定复方红花喷雾剂中羟基红花黄色素 A(hydroxysafflor yellow A, HSYA)与绿原酸含量的方法。方法 采用双波长 HPLC, 色谱柱: Shim-pack VP-ODS(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈-0.4%磷酸溶液(12:88), 流速为 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长: 403 nm(HSYA)和 327 nm(绿原酸), 柱温为 30 ℃。结果 HSYA、绿原酸的浓度分别在 0.612~12.24, 0.632~12.64 μg·mL⁻¹ 内与各自峰面积呈良好的线性关系(r 均为 0.999 9); 平均加样回收率分别为 98.34%和 99.82%, RSD 分别为 1.16%和 1.64%($n=9$)。结论 该方法操作简便、快速, 结果可靠, 具有良好的重复性, 可用于复方红花喷雾剂中 HSYA 与绿原酸的含量测定。

关键词: 复方红花喷雾剂; 羟基红花黄色素 A; 绿原酸; 双波长高效液相色谱法

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2016)03-0325-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.03.015

Simultaneous Determination of Hydroxysaffor Yellow A and Chlorogenic Acid in Fufang Honghua Spray by Dual-wavelength HPLC

TANG Qiuhua, LIN Hui*, ZHANG Yifan, HUANG Xiangchang(Quanzhou First Hospital Affiliated to Fujian Medical College, Quanzhou 362000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for the simultaneous determination of hydroxysaffor yellow A(HSYA) and chlorogenic acid in Fufang Honghua spray. **METHODS** The dual-wavelength HPLC was adopted. The Shim-pack VP-ODS column(250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used with mobile phase of acetonitrile-0.4% phosphonic acid(12:88) at flow rate of 1.0 mL·min⁻¹, and the detection wavelength was set at 403 nm for HSYA and 327 nm for chlorogenic acid. The column temperature was 30 ℃. **RESULTS** The method displayed good linearity over the concentration ranges of 0.612–12.24 μg·mL⁻¹ for HSYA and 0.632–12.64 μg·mL⁻¹ for chlorogenic acid($r=0.999\ 9$), respectively. The average recoveries were 98.34% and 99.82%, with the RSD of 1.16% and 1.64% ($n=9$), respectively. **CONCLUSION** This method is simple, rapid, reliable and reproducible. It can be used for determination of HSYA and chlorogenic acid in Fufang Honghua spray.

KEY WORDS: Fufang Honghua spray; hydroxysaffor yellow A; chlorogenic acid; dual-wavelength HPLC

复方红花喷雾剂是由红花、当归、金银花、五倍子等 7 味中药经现代中药制剂工艺制成的喷雾剂, 临床上主要用于褥疮等的治疗。在复方红花喷

雾剂处方中, “君” 药——红花中活性成分查耳酮苷类化合物——羟基红花黄色素 A(hydroxysafflor yellow A, HSYA)具有活血化瘀、去腐生肌之功效;

基金项目: 福建省泉州市科技计划项目(2013Z76)

作者简介: 汤秋华, 女, 副主任药师 Tel: (0595)22277053
E-mail: linhuijqz@126.com

E-mail: tqh909318@aliyun.com

*通信作者: 林辉, 男, 主任药师

Tel:

“臣”药——金银花活性成分之一有机酸主要为绿原酸，具有消炎解毒、通经散肿、排脓清热之功效。为有效控制该制剂的内在质量，确保疗效的稳定，本实验采用双波长 HPLC 建立了同时测定复方红花喷雾剂中 HSYA 与绿原酸含量的方法。

1 仪器与试药

Shimadzu LC-20AT 高效液相色谱仪(LC-20AT 泵, SPD-M20A 二极管阵列检测器, CBM-20A 控制器, SIL-20A 进样器, CTO-10ASVP 柱温箱, 日本岛津公司); CP225D 电子天平(瑞士 Sartorius 公司); SB2200 型超声波清洗器(上海必能信有限公司)。

复方红花喷雾剂(笔者所在医院制剂室, 批号: 20150324、20150410、20150424); HSYA 对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 111637-201308, 纯度: 95.5%); 绿原酸对照品(中国食品药品检定研究院, 批号: 110753-201415, 纯度: 96.2%); 乙腈、甲醇为色谱纯; 水为超纯水; 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液的制备

精密称取 HSYA、绿原

酸对照品各适量, 分别用 25% 甲醇溶液定容, 制成 $61.2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $63.2 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 对照品贮备液。精密量取 2 种对照品贮备液各 1 mL, 置同一 10 mL 量瓶中, 用 25% 甲醇溶液稀释至刻度, 摇匀, 制成混合对照品溶液。

2.1.2 供试品溶液的制备 精密量取复方红花喷雾剂 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 用 25% 甲醇溶液定容; 精密量取上清液 2 mL, 置 25 mL 量瓶中, 用 25% 甲醇溶液定容, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液。

2.1.3 阴性对照溶液的制备 按复方红花喷雾剂的制备工艺制备不含红花、金银花的阴性样品, 再按“2.1.2”项下方法制备阴性对照溶液。

2.2 色谱条件与系统适应性试验

色谱柱: Shim-pack VP-ODS (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.4% 磷酸溶液(12:88); 流速: $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 检测波长: HSYA 为 403 nm、绿原酸为 327 nm; 进样量: 10 μL 。

在此色谱条件下, 混合对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液色谱图见图 1。供试品中 HSYA、绿原酸与相邻峰的分离度均 >1.5 , HSYA 和绿原酸的理论板数均 $>8\ 000$, 阴性对照溶液无干扰。

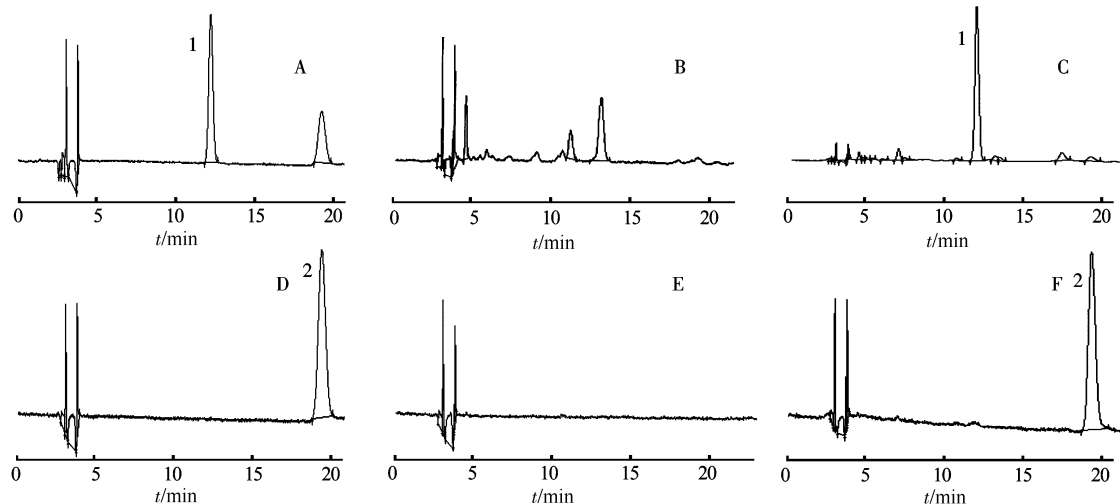


图 1 高效液相色谱图

A—混合对照品溶液(327 nm); B—阴性对照溶液(327 nm); C—供试品溶液(327 nm); D—混合对照品溶液(403 nm); E—阴性对照溶液(403 nm); F—供试品溶液(403 nm); 1—绿原酸; 2—HSYA。

Fig. 1 HPLC chromatograms

A—standard solution(327 nm); B—negative solution(327 nm); C—sample solution(327 nm); D—standard solution(403 nm); E—negative solution(403 nm); F—sample solution(403 nm); 1—chlorogenic acid; 2—HSYA.

2.3 线性关系考察

依次精密吸取 HSYA、绿原酸对照品贮备液各 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0 mL, 分别置于同一 10 mL 量瓶中, 用 25% 甲醇溶液定容。按“2.2”项下色谱条件下分别进样, 测定其峰面积, 以浓

度($C, \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)为横坐标, 峰面积(A)为纵坐标, 绘制标准曲线, 得 HSYA 的回归方程为 $A=2.520\times 10^4 C-863.4(r=0.999\ 9, n=7)$; 绿原酸的回归方程为 $A=2.872\times 10^4 C+1166(r=0.999\ 9, n=7)$ 。结果表明, HSYA、绿原酸的浓度分别在

0.612~12.24, 0.632~12.64 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内与各自峰面积呈良好的线性关系。

2.4 仪器精密度试验

取“2.1.1”项下混合对照品溶液,按“2.2”项下色谱条件连续重复进样 6 次,以峰面积计算 HSYA、绿原酸的 RSD 分别为 0.89%和 0.34%,结果表明仪器精密度良好。

2.5 重复性试验

取同一批号样品,按“2.1.2”项下方法制备 6 份供试品溶液,在“2.2”色谱条件下分别进样,以峰面积计算 HSYA、绿原酸的 RSD 分别为 0.73%和 1.11%,结果表明测定方法重复性良好。

2.6 稳定性考察

取同一供试品溶液,放置室温,按“2.2”项下色谱条件分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 进样,以峰面积计算 HSYA 和绿原酸的 RSD 分别为 1.43%和 1.61%,结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.7 加样回收率试验

精密称取 HSYA、绿原酸对照品各适量,置于 10 mL 量瓶中,用 25%甲醇溶液定容,制成浓度分别为 0.650 0 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 0.576 0 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液。精密量取已知含量的复方红花喷雾剂(批号: 20150410)9 份,每份 1.0 mL,分别精密加入高、中、低 3 个浓度的混合对照品溶液各 3 份,按“2.1.2”项下方法制备,同法测定,计算回收率,结果显示,该方法回收率良好,结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果(n=9)

Tab. 1 Results of recovery tests(n=9)

成分	样品含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
HSYA	0.651 3	0.520 0	1.154 5	96.77	98.34	1.16
	0.651 3	0.520 0	1.162 2	98.25		
	0.651 3	0.520 0	1.160 8	97.98		
	0.651 3	0.650 0	1.301 0	99.95		
	0.651 3	0.650 0	1.289 9	98.25		
	0.651 3	0.650 0	1.283 2	97.22		
	0.651 3	0.780 0	1.432 8	100.19		
	0.651 3	0.780 0	1.421 3	98.72		
	0.651 3	0.780 0	1.413 5	97.72		
	0.572 0	0.460 8	1.033 7	100.20		
绿原酸	0.572 0	0.460 8	1.041 1	101.80	99.82	1.64
	0.572 0	0.460 8	1.026 3	98.59		
	0.572 0	0.576 0	1.134 2	97.60		
	0.572 0	0.576 0	1.148 0	100.00		
	0.572 0	0.576 0	1.134 1	97.59		
	0.572 0	0.691 2	1.275 0	101.71		
	0.572 0	0.691 2	1.260 4	99.59		
	0.572 0	0.691 2	1.272 2	101.30		

2.8 样品测定

按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件,对 3 批复方红花喷雾剂样品进样测定,并计算 HSYA、绿原酸的平均含量,结果见表 2。

表 2 复方红花喷雾剂中 HSYA、绿原酸的含量测定(n=3)

Tab. 2 The contents of HSYA and chlorogenic acid in Fufang Honghua spray samples(n=3)

批号	HSYA		绿原酸	
	平均含量/ $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/ %	平均含量/ $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	RSD/ %
20150324	0.6080	1.23	0.5592	1.89
20150410	0.6513	1.57	0.5720	0.93
20150424	0.6168	1.72	0.5461	1.23

3 讨论

中药制剂中分别对 HSYA 和绿原酸含量测定的方法已有文献报道^[1-8],本实验首次建立了同时测定 HSYA 和绿原酸的高效液相色谱法,样品处理简单,分析周期短,为中药复方制剂的研究提供了更为简单、快速的方法。

本实验通过 DAD 检测器对 2 个待测成分的对照品溶液在 200~600 nm 进行扫描,结果表明 HSYA 在 403 nm 处有最大吸收峰,在 327 nm 处的响应值低;而绿原酸在 327 nm 有最大吸收峰,在 403 nm 几乎无吸收,为保证被测成分均有较好的响应,本实验选择了在 403 nm 处测定 HSYA、327 nm 处测定绿原酸。同时对供试品溶液的色谱峰进行纯度检测,结果各成分峰的纯度指数均 ≥ 0.980 。

本制剂由多味中药组成,方中干扰成分较多,曾参照文献^[1-8]及中国药典 2010 年版一部红花及金银花药材中的含量测定方法对 HSYA、绿原酸进行分离,结果发现制剂中其他成分对绿原酸的测定存在干扰。本实验考察了不同比例的甲醇-磷酸溶液^[2]、甲醇-醋酸溶液^[1]、乙腈-磷酸^[4]溶液系统,结果发现采用乙腈-0.4%磷酸溶液(12:88)洗脱,HSYA 和绿原酸的峰型对称,与相邻峰分离完全,且方法学考察也满足实验分析要求。

REFERENCES

[1] WANG H Y, FENG X, DONG L S, et al. Determination of hydroxysaffor yellow A in Honghua Qinggan Shisanwei pill by RP-HPLC assay [J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2008, 17(11): 952-961.
[2] ZHANG R, WANG T, LIU Q D, et al. Determination of hydroxysaffor yellow A content in drug pair of flos carthami and semen persicae in different ratios by HPLC [J]. J

- Guangzhou Univ Tradit Chin Med(广州中医药大学学报), 2009, 26(4): 381-383.
- [3] TAN S J, CHI J P, HE Y Q, et al. Determination of hydroxysafflor yellow A in Qiangjin Jiangu powder by HPLC [J]. Pharm J Chin PLA(解放军药学报), 2013, 29(5): 464-479.
- [4] YU L Q, HE X Y, HUANG Y R. Simultaneous determination of paeoniflorin, salviolic acid B and hydroxysafflor yellow A in guangxinkang granules by HPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2015, 32(5): 561-564.
- [5] LIU H T, LEI P, LIU Y H, et al. Simultaneous determination of protocatechuic acid, chlorogenic acid and caffeic acid in herba patriniae by dual-wavelength HPLC [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2013, 33(4): 611-615.
- [6] 郑敏. 双波长 HPLC 同时测定清营颗粒中绿原酸与甘草酸铵含量[J]. 天津药学, 2014, 26(2): 17-19.
- [7] QIN Q F. Determination of chlorogenic acid, forsythoside, rhein, emodin and chrysophanol in lianhuan qingwen capsules by HPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2014, 31(2): 210-213.
- [8] ZUO X, LIU C X, YANG J X, et al. Determination of chlorogenic acid in Honeysuckle stem Honeysuckle from different sources in different harvest periods by HPLC [J]. China Pharm(中国药师), 2015, 18(4): 682-684.
- 收稿日期: 2015-09-16

提高注射用替考拉宁澄清度和稳定性的探讨

孟玉芳, 侯国枝, 邹琦, 谭新衡(浙江医药股份有限公司新昌制药厂, 浙江 新昌 312500)

摘要: 目的 制备含有氯化钠的注射用替考拉宁, 并对其澄清度和稳定性进行考察。方法 分别采用含有多羟基的醇类、单糖类和双糖类化合物为赋形剂制备注射用替考拉宁, 考察不同辅料对澄清度的影响; 利用正交试验设计优化注射用替考拉宁冻干工艺, 考察其加速和长期稳定性。结果 处方中加入聚乙二醇 400, 采用速冻至 -50°C 后保持 3 h; 5 h 内从 -50°C 升至 -20°C 后保持 20 h; 2 h 内从 -20°C 升至 40°C 后保持 6 h 的冻干工艺能有效提高澄清度。结论 该方法制备的注射用替考拉宁澄清度良好, 质量稳定, 可以室温保存。

关键词: 注射用替考拉宁; 澄清度; 正交试验; 稳定性

中图分类号: R917 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2016)03-0328-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.03.016

Study on the Improvement of Clarity and Stability for Teicoplanin for Injection

MENG Yufang, HOU Guozhi, ZOU Qi, TAN Xinheng(Zhejiang Medicine Co., Ltd., Xinchang Pharmaceutical Factory, Xinchang 312500, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To prepare the teicoplanin for injection containing sodium chloride, study the clarity and stability. **METHODS** The teicoplanin for injection including hydroxyl alcohols, monosaccharide and disaccharides compounds were prepared separately and their clarity were tested, the influence of clarity from different materials were compared. The optimization freeze-drying process were selected by orthogonal experimental design. The stability study were conducted in an accelerated testing and long-time testing. **RESULTS** The best formulation was that containing PEG400, the optimization freeze-drying process were fast frozen to -50°C and keep 3 h; 5 h from -50°C to -20°C and keep 20 h; 2 h from -20°C to 40°C and keep 6 h. **CONCLUSION** The teicoplanin for injection produced with this method has good clarity, stable quality and could be kept in room temperature.

KEY WORDS: teicoplanin for injection; clarity; orthogonal test; stability

替考拉宁又名肽可霉素(teicoplanin A_2)^[1], 是 Parenti 等于 1978 年发现的一种与万古霉素类似的新的糖肽类抗菌药物, 由游动放线菌(*Actinoplanes teichomyceticus*)产生。替考拉宁是一种多组分抗菌药物, 分子量约为 1 900, 主要由 5 个结构非常相

似的化合物 TA_{2-1} 、 TA_{2-2} 、 TA_{2-3} 、 TA_{2-4} 和 TA_{2-5} 组成(简称 TA_2), 另含有少量降解产物 TA_{3-1} 及其他杂质, 是目前临床上用于治疗多重耐药菌感染的重要抗菌药物。

替考拉宁由安万特公司研制开发, 1988 年在

作者简介: 孟玉芳, 女, 硕士, 高级工程师 Tel: (0575)86021680 E-mail: myf@xcpharma.com