

· 论著 ·

蒽酮染色法测定维地红涂剂中多糖的含量

余学英,常明泉,陈芳,王刚(湖北医药学院附属太和医院,湖北十堰442000)

[摘要] 目的 建立维地红涂剂中多糖的含量测定方法。方法 用无水葡萄糖为对照品,0.2%蒽酮-硫酸试液为染色剂,紫外分光光度法测定,测定波长620 nm。结果 多糖在1.9~34.2 μg/ml范围内线性关系良好, $Y=0.033X-0.0067$ ($r=0.9999$),回收率为98.6%, $RSD=1.06%$ ($n=6$)。结论 所建方法便捷、重现性好,适用于维地红涂剂中多糖的含量测定。

[关键词] 维地红涂剂;多糖;含量测定

[中图分类号] R927.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2014)05-0352-03

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2014.05.009

Determination of the polysaccharide in Verdihong paint

YU Xueying, CHANG Mingquan, CHEN Fang, WANG Gang (Taihe Hospital Affiliated to Hubei University of Medicine, Shiyan 442000, China)

[Abstract] **Objective** To establish the determination method of the polysaccharide in Verdihong paint. **Methods** The anhydrous dextrose was used as the control, 0.2% anthrone-sulfuric acid as the stain, the content of polysaccharide was determined by ultraviolet spectrophotometer at the wavelength of 620 nm. **Results** The polysaccharide curve was linear within a range of 1.9~34.2 μg/ml, linear equation was $Y=0.033X-0.0067$ ($r=0.9999$), the average recovery was 98.6% with RSD of 1.06% ($n=6$). **Conclusion** This method was convenient, stable and could be used to assay content of the polysaccharide in Verdihong paint.

[Key words] Verdihong paint; polysaccharide; content determination

维地红涂剂是湖北医药学院附属太和医院的一个在研新制剂^[1],该制剂由维生素B₂、醋酸地塞米松、白及溶胶、红霉素、盐酸丁卡因等药物组成,具有抗菌消炎、止痛、促进口腔溃疡愈合的作用,用于由于病毒感染、免疫力低下或缺乏维生素等原因引起的多种内源性口腔溃疡疾病。白及溶胶中的主要活性成分为白及多糖,它具有抗炎、收敛、促进溃疡愈合的作用^[2],为了有效控制制剂质量,本试验拟用蒽酮染色法,以多糖为指标对维地红涂剂中白及溶胶的含量进行测定。

1 仪器与材料

TU1901型双光束紫外/可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);UP5200HE超声震荡仪(熊猫集团南京电子计量有限公司,500 W,50 Hz);分析天平(上海精科精密仪器厂,精度0.000 1 g);无水葡萄糖对照品(中国药品生物制品检定所提供,批号:17-0350-17);维地红涂剂(由湖北医药

学院附属医院自制,批号:20130410,20130411,20130412);水为纯化水(湖北医药学院附属医院新鲜自制),氯仿、乙醇、蒽酮、硫酸均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备 ①对照品溶液:精密称取无水葡萄糖对照品10.4 mg,置200 ml容量瓶中,加纯化水溶解、定容,即得0.052 mg/ml对照品储备液,精密吸取该溶液2 ml于刻度试管中,加入0.2%蒽酮-硫酸试液6 ml,静置30 min,使其反应充分并待温度降至室温后,摇匀,即得。②供试品溶液的制备:精密称取维地红涂剂样品0.25 g于烧杯内,加适量纯化水超声3~5 min,将溶液转移至100 ml容量瓶中,用少许纯化水洗涤烧杯3次(每次约15 ml),合并洗液并定容、摇匀、过滤,取续滤液2 ml于刻度试管中,加0.2%蒽酮-硫酸试液6 ml,静置30 min,使其反应充分并降至室温,摇匀,即得。③空白溶液的制备:取不含白及溶胶的维地红涂剂0.25 g于烧杯内,按供试品溶液的方法制备,即得。

2.2 测定波长的选择^[2-4] 取“2.1”项下的各溶液,以相应试剂为空白,用分光光度计在500~700 nm处扫描,记录扫描图,结果对照品溶液、样品溶液

[基金项目] 太和科研基金资助项目(2009D34)。

[作者简介] 余学英,大学本科,主管药师。Tel:15342715809,E-mail:907622985@qq.com。

[通讯作者] 常明泉。Tel:13986912958,E-mail:907622985@qq.com。

在 620 nm 处均有最大吸收,空白溶液在此波长处无吸收,说明样品中的其他物质对测定无干扰,确定 620 nm 为检测波长,见图 1。

2.3 曲线方程的建立 分别精密吸取浓度为 0.152 mg/ml 无水葡萄糖对照品溶液 0.1、0.3、0.6、0.9、1.2、1.5、1.8 ml 于刻度试管中,各加水至 2 ml,各加入 0.2% 蒽酮-硫酸试液 6 ml,静置 30 min,使其

反应充分并待温度降至室温后,摇匀,即得每 ml 含无水葡萄糖 1.9、5.7、11.4、17.1、22.8、28.5、34.2 μg 的溶液,以相应试剂为空白,在 620 nm 处测定吸收度,以吸收度值为纵坐标,浓度为横坐标进行线性回归,得曲线方程为 $Y = 0.033X - 0.0067$ ($r = 0.9999$),无水葡萄糖在 1.9 ~ 34.2 μg/ml 范围内呈良好的线性关系。

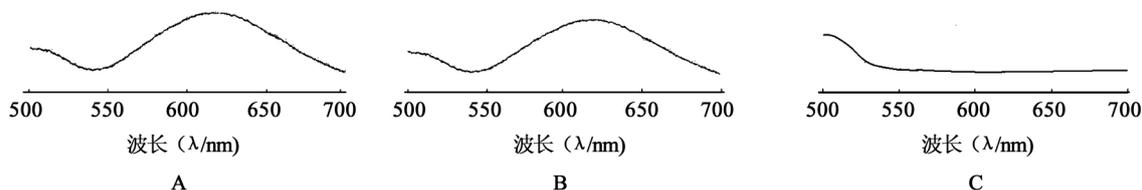


图 1 可见光扫描图

A. 对照品溶液; B. 供试品溶液; C. 空白溶液

2.4 精密度试验 取“2.1”项下经染色后的对照品溶液,以相应试剂为空白,在波长 620 nm 处测定吸收度,重复操作 5 次,结果 RSD 为 1.22%,表明该仪器精密度良好。

2.5 稳定性试验 取“2.1”项下经染色后的供试品溶液,以相应试剂为空白,在波长 620 nm 处分别于 0.5、1、2、3、6 h 测定吸收度,结果 RSD 为 1.82%,说明染色后的样品溶液在 6 h 内稳定。

2.6 重复性试验 平行精密称取 5 份样品,每份

0.25 g,按“2.1”项下方法制备供试液,以相应试剂为空白,在波长 620 nm 处测定吸收度,计算白及多糖含量,结果 RSD 为 1.42%。

2.7 回收率试验 精密称取已知含量的维地红涂剂(批号 20130410) 0.125 g,共 9 份,每 3 份 1 组,分别按样品含量的 80%、100%、120% 精密加入对照品溶液,按“2.1”项下供试品溶液制备方法制备溶液,以相应试剂为空白,在波长 620 nm 处测定吸收度,计算含量,结果见表 1。

表 1 维地红涂剂中多糖回收率试验结果($n=9$)

样品编号	样品称重(g)	样品含量(mg)	对照品加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均值(%)	RSD(%)
1	0.1255	2.89	1.84	4.64	98.1		
2	0.1240	2.85	1.84	4.68	99.8		
3	0.1241	2.85	1.84	4.67	99.6		
4	0.1304	3.00	2.30	5.11	96.4	98.6	1.06
5	0.1261	2.90	2.30	5.15	99.0		
6	0.1243	2.86	2.30	5.04	97.7		
7	0.1251	2.88	2.76	5.58	98.9		
8	0.1248	2.87	2.76	5.59	99.3		
9	0.1252	2.88	2.76	5.60	99.3		

2.8 含量测定 取样品 3 批,各精密称取 0.25 g,按“2.1”项下供试品溶液方法制备,以相应试剂为空白,在波长 620 nm 处测定吸收度,计算白及多糖的含量,结果见表 2。

表 2 维地红涂剂中多糖含量测定结果($n=3$)

样品批号	白及多糖含量(% g/g)	RSD(%)
20130410	2.30	1.32
20130411	2.41	1.24
20130412	2.33	1.16

3 讨论

用蒽酮-硫酸试液做染色剂测定白及多糖,使多糖经水解后,进一步脱水生成糠醛及其衍生物,这些物质与蒽酮缩合成蓝绿色物质,缩合物生成量与可溶性糖含量之间存在定量关系,且缩合物在特定波长处及一定浓度范围内与吸光度之间存在线性关系^[1,6,7],蒽酮只与糠醛特定缩合,而与样品溶液中的其他物质不缩合,尽管样品中有维生素B₂的存在(下转第 356 页)

2.6 稳定性试验 对室温放置 2 h、-70℃ 保存 30 d、-70℃-室温反复冻融 3 次的血浆样品稳定性进行考察,低、中、高 3 个浓度变异均小于 15%,符合指导原则要求;血浆样本经 2.2 项下预处理后室温放置 8 h 可保持稳定。

3 讨论

非布司他是美国 FDA 于 2009 年批准的用于治疗尿酸过高症的药物,至今国内仍未上市。国内发表的非布司他血药浓度检测的文献较少^[2,3]。为了更清楚地了解非布司他在中国人体内的药学特点,笔者建立了简单、灵敏的 LC-MS-MS 检测方法,并用于临床生物样本的大批量检测。

本方法采用恒比流动相质谱检测法,比荧光梯度检测法^[2]快捷灵敏;并通过优化色谱条件,选择了 Thermo Biobasic-8 柱(5 μm, 50 mm × 2.1 mm),使单个样品检测仅需要 2 min,比文献^[3]大大减少了检测时间与环境污染;采用乙腈沉淀法,使血浆样

品处理非常简便快捷。

本方法检测专属性强,灵敏度高,简便快捷,适于临床生物样本的大批量检测,对非布司他生物等效性与药代动力学研究有很好的参考价值。

【参考文献】

- [1] Mayer MD, Khosravan R, Vermillet L, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of febuxostat, a new non-purine selective inhibitor of xanthine oxidase, in subjects with renal impairment [J]. *Am J Ther*, 2005, 12(1): 22-34.
- [2] 张文丽,程航,阳国平. 高效液相-荧光法测定人血浆中非布司他的浓度及其人体药理学研究[J]. *临床药理学*, 2011, 16(10): 1148-1152.
- [3] 施政,刘健,申屠建中,等. 非布司他在中国健康人体的生物等效性[J]. *中国临床药理学杂志*, 2013, 162(4): 276-279.

[收稿日期] 2013-08-08 [修回日期] 2014-04-14

[本文编辑] 陈静

(上接第 353 页)

在,使溶液呈浅黄色,经染色后并不影响多糖的含量测定。样品加入染色剂后在室温环境下放置 30 min,一方面使其反应充分,再者当染色剂加入后溶液温度骤然升高(近 90℃),使其降温至室温后便于稳定操作。应严格控制反应时间和温度,时间过长或反应温度不一致会影响测定结果。

维地红涂剂是一种以白及溶胶为分散介质的混悬剂,白及溶胶本身在该制剂中不仅是分散介质,同时也是一种良好的治疗溃疡的药物,白及多糖溶于水,因而在制备供试液时以水为溶剂,用超声处理 3~5 min,使样品迅速分散、多糖溶出。在样品溶液染色时曾使用 10 ml 容量瓶,取样品溶液 2 ml 加染色剂至刻度,由于加入染色剂时溶液温度骤然升高,体积膨胀,当反应完全降至室温时,因为热胀冷缩原因,溶液体积只在 9~9.5 ml 之间,不便于定量,影响测定结果。参考文献[8]方法取样后在刻度试管中加入 6 ml 染色剂制备样品,则结果趋于稳定。蒽酮-硫酸法测定维地红涂剂中多糖的含量,操作便利、方法稳定,结果重现

性好。由于在浓酸条件下作业,应注意仪器及人身安全防护。

【参考文献】

- [1] 常明泉,余学英,杜士明,等. 维地红涂剂的制备与质量控制[J]. *儿科药学杂志*, 2012, 18(11): 37-39.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2010 年版二部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 379-380.
- [3] 陈芳,钟明哲,常明泉,等. 凡胶软膏的体外释放度考察[J]. *医药导报*, 2012, 31(12): 1610-1612.
- [4] 陈芳,常明泉,杜士明,等. 不同浓度蒽酮-硫酸试液对白及溶胶含量的影响[J]. *中国药师*, 2012, 15(11): 1604-1606.
- [5] 王爱民,王永林,郑林,等. 白及药材中多糖的含量测定[J]. *中国中药杂志*, 2009, 34(22): 2963-2965.
- [6] 张庆红,马梅芳. 硫酸-蒽酮法测定天冬中多糖的含量[J]. *中国现代中药*, 2008, 10(8): 18-22.
- [7] 李云霞,戴卫红,张彬,等. 蒽酮-硫酸法测定参麦软胶囊中多糖的含量[J]. *解放军药学学报*, 2011, 27(6): 511-512.
- [8] 马国琴,王引权,赵勇. 蒽酮-硫酸比色法测定党参中可溶性糖含量的研究[J]. *甘肃中医学院学报*, 2009, 26(6): 46-48.

[收稿日期] 2013-10-12 [修回日期] 2013-12-27

[本文编辑] 陈静