

酸性染料比色法在黄杨宁及其片剂质量控制中的应用

冯 芳 马永建¹ 张正行 陈 辉²

(中国药科大学药物分析研究室,南京 210009; ¹江苏省卫生防疫站,南京 210009)

摘要 首次建立了黄杨宁酸性染料比色法。考察了各种因素对测定结果的影响。该方法可用于黄杨宁原片剂的含量测定及片剂的含量均匀度检查。具有灵敏度高、准确度好、操作简便等优点。

关键词 黄杨宁; 片剂; 含量测定; 酸性染料比色法; 溴麝香草酚蓝; 含量均匀度

黄杨宁(cyclovirobuxine D)系一甾烷生物碱^[1],其片剂临幊上用于治疗冠状动脉粥样硬化性心脏病。目前,黄杨宁采用非水滴定法^[1]测定含量。该方法经实践发现,测定结果常常偏低。此外,由于每片仅含0.5 mg,因而,片剂的含量均匀度检查在质量控制中十分必要。但非水滴定法及文献报道比色法^[2,3],灵敏度低,无法开展这一工作。根据黄杨宁结构特点,本文首次建立了黄杨宁酸性染料比色法,对染料种类、溶液pH、染料与黄杨宁的配比、显色稳定性、测定波长、方法的线性及方法的准确度等进行了系统的研究。在此基础上,测定了黄杨宁原料、片剂的含量,并对片剂的含量均匀度进行了检查,结果令人满意。

1 实验部分

1.1 仪器与试药

Perkin-Elmer紫外分光光度仪; 751G分光光度计(上海分析仪器厂)。

黄杨宁对照品(江苏省药品检验所);黄杨宁原料及片剂(南京小营制药厂);二次重蒸馏水(自制);其它试剂均为分析纯。

1.2 染料种类的选择

根据形成离子对的条件^[4],选择溴麝香草酚蓝(BTB)、溴酚蓝(BPB)及溴甲酚绿(BCG)作为染料试剂,考察它们与黄杨宁形成离子对的情况。

精密称取黄杨宁及各种染料适量,配成黄杨宁浓度为 2.4×10^{-5} mol/L及染料浓度约为 $7.0 \times$

10^{-5} mol/L水溶液(pH均为4.55)。精密移取黄杨宁及染料溶液各5.0 ml于一分液漏斗中,摇匀,再准确加入氯仿10.0 ml,振摇2 min,静置,使之分层。分取澄清氯仿层(黄色),于波长420 nm处测定吸收度。结果见表1。

Tab 1. Ion-pairs formation of several dyes with cyclovirobuxine D

Dye	C(mol/L)	A
BTBP	7.02×10^{-5}	0.442
BPB	7.2×10^{-5}	0.071
BCG	6.94×10^{-5}	0.403

可见,相近染料浓度条件下,黄杨宁与溴麝香草酚蓝形成离子对的吸收度最大,即灵敏度最高,这与溴麝香草酚蓝是一种很好酸性染料试剂的报道^[4]一致。因此,在以下研究中,侧重于以溴麝香草酚蓝作为染料试剂。

1.3 溶液pH的选择

根据溴麝香草酚蓝和黄杨宁的酸、碱性,选择pH4.0~6.5范围考察离子对生成情况,以确定溶液的最适宜pH。精密称取黄杨宁对照品及溴麝香草酚蓝适量,用不同pH值的缓冲溶液配成黄杨宁浓度为 3.0×10^{-5} mol/L,溴麝香草酚蓝浓度为 1.23×10^{-4} mol/L的两种溶液。精密移取同一pH的黄杨宁和溴麝香草酚蓝溶液各5.0 ml,按1.2项下方法操作。当溶液pH为4.0,4.53,5.03,5.50,6.0,6.5时,吸收度A分别为0.616,0.619,0.613,0.678,0.444,0.496。可见,在pH4.0~5.0范围内,黄杨宁溴麝香草酚蓝离子对形成程度较大,且吸

收值 A 几近平台。pH 值进一步增大, 离子对形成程度减小。这一现象与含两个碱性基团的生物碱与溴麝香草酚蓝形成 1: 2 离子对需要在较酸性范围 (pH 3.0~5.8) 报道^[5] 相符。为保证测定方法的准确度, 选择 pH 4.5 磷酸盐缓冲液作为测定用 pH 控制液。

1.4 黄杨宁与染料配比的确定

精密称取黄杨宁及溴麝香草酚蓝适量, 配成黄杨宁浓度为 2.3×10^{-5} mol/L, 溴麝香草酚蓝浓度为 2.3×10^{-5} mol/L 及其倍数的各种溶液, 按

1.2 项下方法操作。结果表明: 当黄杨宁与溴麝香草酚蓝分子比处于 1:4~1:6 范围时, 吸收值 A 成一平台, 表明在这一配比范围内离子对的形成程度相同。

1.5 干扰因素考察

除黄杨宁外, 以配方比例称取各种辅料适量, 按样品测定项下步骤操作, 测定吸收度, 结果表明辅料没有吸收。

1.6 线性关系考察

黄杨宁溶液配制 精密称取经干燥至恒重的黄杨宁对照品适量, 精密称定, 以磷酸盐缓冲液为溶剂制成浓度为 1.6×10^{-2} mg/ml 溶液。

溴麝香草酚蓝溶液配制 取溴麝香草酚蓝适量, 精密称定, 加磷酸盐缓冲液制成浓度为 7×10^{-2} mg/ml 溶液。

分别准确移取 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 ml 黄杨宁溶液于 5 个分液漏斗中, 再精密加入磷酸盐缓冲液 4.0, 3.0, 2.0, 1.0, 0.0 ml 及溴麝香草酚蓝溶液 5.0 ml, 摆匀。加入氯仿 10.0 ml, 按 1.2 项下方法, 测得线性回归方程为: $C = -0.392 + 10.74A$; 相关系数 $r = 0.9999$ 浓度范围 $1.0 \sim 10.0 \mu\text{g}/\text{ml}$

1.7 回收率试验

按配方比, 精密称取黄杨宁对照品及各种辅料适量, 配制含黄杨宁高、中、低三个浓度的样品, 然后按样品测定相同方法提取、测定, 结果见表 2。

1.8 精密度考察

精密称取线性考察用黄杨宁溶液 3.0 ml 于分液漏斗中, 加入磷酸盐缓冲液 2.0 ml 及溴麝香草酚蓝溶液 5.0 ml, 按 1.2 项下方法操作, 测定日内、日间精密度, 结果表明: 测定数据的 $RDS < 1.1\%$ ($n = 5$)。

Tab 2. Recoveries of simulated samples ($n = 3$)

No.	Added (mg)	Found (mg)	Recovery (%)	Mean recovery (%) (RSD)
1	0.431	0.424	98.46	
2	0.435	0.431	99.08	
3	0.438	0.441	100.7	
4	0.485	0.482	99.38	
5	0.480	0.474	98.75	99.59 (0.98)
6	0.476	0.471	99.24	
7	0.520	0.525	101.01	
8	0.527	0.523	98.87	
9	0.524	0.528	100.9	

1.9 样品测定

1.9.1 原料测定 取黄杨宁原料适量, 加磷酸盐缓冲液制成浓度为 $10.0 \mu\text{g}/\text{ml}$ 溶液。按 1.2 项下方法测定, 结果见表 3。

以非水酸碱滴定法(现行标准^[1]), 测定同一批原料, 结果同时列入表 3。

Tab 3. Determination of cyclovirobuxine D

No.	Colorimetry (%)	Nonaqueous (%)
(1)	97.81	97.87
(2)	98.59	98.33
(3)	98.85	98.26
(4)	97.62	97.93
(5)	99.22	98.39
\bar{x}	98.42	98.16
RSD	0.69	0.24

将表 3 中两种方法所得结果用统计学配对 t 检验法检验, 结果显示, 两种方法无显著性差异。

1.9.2 片剂测定 取黄杨宁片剂 20 片, 精密称定, 研细, 准确称取片粉约 0.08 g, 置于 50 ml 量瓶中, 加磷酸盐缓冲液适量, 超声溶解并稀释, 摆匀, 过滤, 取续滤液测定。三个批号片剂中, 黄杨宁占标示量百分含量的平均值分别为 98.15% (RSD, 0.22%), 99.04% (RSD, 0.88%) 和 99.69% (RSD, 1.1%)。

1.10 片剂含量均匀度检查

取黄杨宁一片, 置 50 ml 量瓶中, 加磷酸盐缓冲液适量, 超声, 溶解并稀释至刻度, 过滤, 取续滤液作为供试品溶液, 照含量测定项下方法测定, 结果列于表 4。

Tab 4. Uniformity of dosage units

Batch No.	Content (labeled amount, %)	S	A \pm 1.8S
971015	98.37	4.44	9.61
971016-1	99.41	5.61	10.7
971016-2	99.60	4.79	9.01

2 讨 论

2.1 测定波长选择

黄杨宁本身在可见光区无吸收,它与溴麝香草

酚兰形成离子对在411.6 nm波长有最大吸收(图

1)。由于测定时采用对照品比较法,且420 nm波长

刻度明显,易准确调节,故测定中采用420 nm

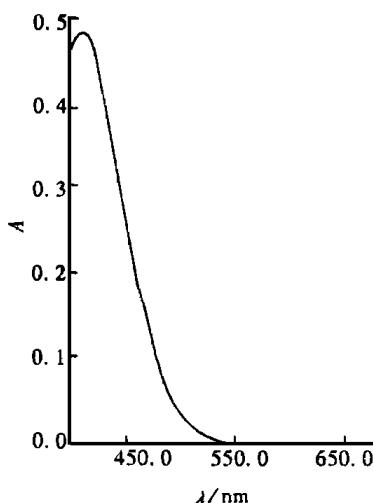


Fig 1. Visible spectrum of cyclovirobuxine D-BPB

2.2 显色稳定性考察

将含量测定用的离子对溶液放置2 h后,再测定吸收值,发现它们在420 nm波长处吸收值几乎不变,表明这些离子对可稳定存在于氯仿中。

2.3 方法灵敏度

采用非水滴定法,分析一次需黄杨宁约0.15 g(相当于片剂150片),而改用酸性染料比色法,测定一次仅用10^μg,灵敏度大为提高。

参 考 文 献

- 1 中华人民共和国卫生部药品标准(第十八分册).黄杨宁质量标准
- 2 汪海孙.冠安片中黄杨木生物碱的紫外分光光度测定法.中成药研究,1988,(5): 11
- 3 许衍根,毛芳汉,郑薇.黄杨碱I号及其片剂比色测定法.中成药研究,1986,(4): 12
- 4 安登魁主编.药物分析.第一版.济南:济南出版社.1992 1161 ~ 1207
- 5 Gupta VD, Harman HB. Selection of best pH range for extraction of amine-bromethynol blue complexes. *J Pharmaceutical Sciences*, 1973, **62**(2): 311

Application of Acid-dye Colorimetry in Quality Control of Cyclovirobuxine D and Its Tablets

Feng Fang, Ma Yongjian¹, Zhang Zhengxing, Chen Hui

Department of Pharmaceutical Analysis, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009; Jiangsu Health and Anti-epidemic Station

Abstract An acid-dye colorimetry method was developed for the determination of cyclovirobuxine D and its tablets. The influence of various factors involving in result of determination was investigated. This method can be used to determine not only the content of material and dosage form of cyclovirobuxine D, but also uniformity of dosage form. It is highly sensitive, accurate and simple.

Key words Cyclovirobuxine D; Tablets; Acid-dye colorimetry; Bormethynol blue; Determination of content; Uniformity of dosage form