

RP-HPLC法测定注射用苦碟子中木犀草素

孔令钰¹, 于治国^{2*}, 曲树明¹

(1. 天津市医药科学研究所, 天津 300020; 2. 沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 建立 RP-HPLC 法测定注射用苦碟子中木犀草素的方法。方法 样品经酸水解后测定。色谱条件为 Apollo-C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.2% 磷酸-乙腈 (74:26); 检测波长: 351 nm; 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 室温; 进样量: 10 μL。结果 木犀草素在 4.58 ~ 45.8 μg/mL 时, 峰面积线性关系良好 ($r = 0.9999$), 平均回收率为 99.3%。结论 该法适用于注射用苦碟子中木犀草素的测定。

关键词: 注射用苦碟子; 木犀草素; 高效液相色谱

中图分类号: R286.02 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2009)07-1076-02

苦碟子为菊科植物抱茎苦蕒菜 *Ixeris sonchifolia* Hance 的当年生干燥全草, 具有清热解毒、排脓、止痛之功效^[1]。临床上注射用苦碟子用于治疗冠心病、脑梗死等疗效显著^[2]。黄酮为注射用苦碟子的主要有效成分, 其中以木犀草素及其糖苷的量较高, 其具有较强的抗氧化活性, 在体内有抗菌、抗病毒及降低血脂和胆固醇的作用^[3]。由于苦碟子中的木犀草素多以糖苷形式存在, 苷元的量极低, 难以检测。故本实验通过酸水解方法, 使许多复杂的木犀草素糖苷转化成木犀草素黄酮苷元并通过高效液相色谱法予以测定。本方法准确、可靠, 对确保注射用苦碟子的质量提供了可靠的检测方法。

1 仪器与试剂

Shimadzu LC-10AT vp 高效液相色谱仪 (日本岛津), Shimadzu SPD-10A 紫外检测器 (日本岛津), Anashtar 色谱工作站, Mettler AE 240 电子分析天平。

木犀草素对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号: 111520-200201), 乙腈、甲醇为色谱纯, 水为二次重蒸水, 注射用苦碟子 (自制)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统适用性试验: Apollo-C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.2% 磷酸-乙腈 (74:26); 检测波长: 351 nm; 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 室温; 进样量: 10 μL。理论塔板数按木犀草素峰计算不低于 5 000。在上述色谱条件下, 对照品和样品的色谱图见图 1。

2.2 对照品储备溶液的制备: 取木犀草素对照品

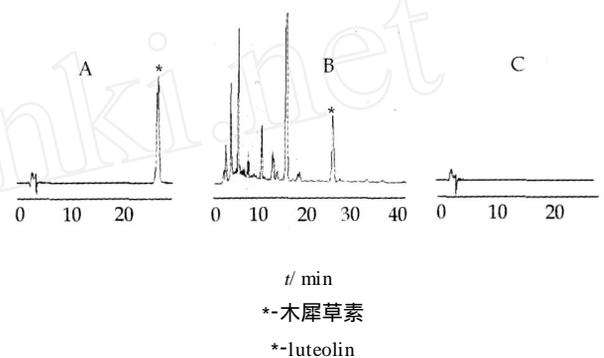


图1 木犀草素对照品(A)、注射用苦碟子(B)和辅料(C)的HPLC色谱图

Fig 1 HPLC Chromatograms of luteolin reference substance (A), Plantula *Ixeridis Sonchifoliae* for injection (B), and mannitol (C)

9.16 mg, 置于 50 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。取对照品储备溶液 0.75 mL 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.3 供试品溶液的制备

2.3.1 酸度的选择: 取装量差异下苦碟子冻干粉针 5 支, 分别用 30 mL 甲醇溶解在 100 mL 锥形瓶中, 并分别加入 5 mL 体积分数分别为 20%、25%、30%、35%、40% HCl, 于沸水浴中回流水解 2 h。放冷, 置 50 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度。经 0.45 μm 微孔膜滤过后进行色谱分析。结果木犀草素质量分数依次为 0.203、0.228、0.268、0.304、0.215 mg/支。结果表明酸度过高、过低均导致木犀草素质量分数偏低, 而以 35% HCl 水解所得木犀草素质量分数较高。

2.3.2 水解温度对分析结果的影响: 取装量差异下

* 收稿日期: 2008-10-05

作者简介: 孔令钰 (1980—), 女, 天津人, 研究实习员, 硕士, 主要研究药物分析及药动力学方面。

Tel: 13682103787 E-mail: lingyu_kong@163.com

* 通讯作者 于治国

苦碟子冻干粉针 5 支,分别用 30 mL 甲醇溶解在 100 mL 锥形瓶中,加入 35% HCl 5 mL,分别在 80、85、90、95、99.9 下水解 2 h。放冷,置 50 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度。经 0.45 μm 微孔膜滤过后进行色谱分析。结果木犀草素质量分数依次为 0.282、0.310、0.300、0.295、0.304 mg/支。表明以 85 水浴水解较适宜。

2.3.3 水解时间对分析结果的影响:取装量差异下苦碟子冻干粉针 5 支,分别用 30 mL 甲醇溶解在 100 mL 锥形瓶中,加入 35% HCl 5 mL,在 85 水浴条件下,分别水解 1.5、2、2.5、3、3.5 h。放冷,置 50 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,经 0.45 μm 微孔膜滤过后进行色谱分析。结果木犀草素质量分数依次为 0.260、0.310、0.327、0.298、0.304 mg/支。表明水解 2.5 h 所得木犀草素质量分数较高,水解较完全。

综合以上 3 方面因素,选取水解条件为:取装量差异下苦碟子冻干粉针 1 支,用 30 mL 甲醇溶解在 100 mL 锥形瓶中,加入 35% HCl 5 mL,在 85 水浴条件下水解 2.5 h。

2.3.4 供试品溶液的制备:取装量差异下苦碟子冻干粉针 1 支,用 30 mL 甲醇溶解在 100 mL 锥形瓶中,加入 35% HCl 5 mL,在 85 水浴条件下水解 2.5 h。放冷,置 50 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液,即得。

2.4 线性关系的考察:分别吸取木犀草素对照品储备溶液 0.25、0.5、1、1.5、2、2.5 mL 置 10 mL 量瓶中,用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,分别精密吸取 10 μL,进样,测定木犀草素峰面积。以峰面积(Y)对质量浓度(X)进行线性回归,得回归方程 $Y = 15\ 103\ 430X + 498$ ($r = 0.9999$)。结果表明木犀草

素在 4.58~45.8 μg/mL 与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验:精密吸取木犀草素对照品溶液重复进样 6 次,记录色谱图,结果峰面积 RSD 为 0.47%。

2.6 稳定性试验:精密吸取同一供试品溶液,分别在 0、2、4、6、8、10 h 进样,记录色谱图,结果木犀草素峰面积 RSD 为 0.33%,表明供试品溶液在 10 h 内稳定。

2.7 重现性试验:取同一批注射用苦碟子,制备 5 份供试品溶液,进样测定,测得木犀草素平均质量分数为 0.320 mg/支,RSD 为 2.6%。

2.8 回收率试验:采用加样试验法。取同一批苦碟子冻干粉针 10 支,混匀,精密称取 9 份,每份半支量,分为 3 组,每组 3 份,各组分别加入木犀草素对照品储备溶液 0.5、1、1.5 mL,制备供试品溶液,测定,计算回收率,结果平均回收率为 99.3%,RSD 为 1.3% ($n = 9$)。

2.9 样品测定:取 3 批注射用苦碟子,制备供试品溶液,测定,计算其中木犀草素的质量分数,分别为 0.295、0.331、0.321 mg/支。

3 讨论

流动相曾分别选用甲醇-0.4%磷酸(50:50)、乙腈-0.2%磷酸(30:70)和乙腈-0.2%磷酸(26:74)试验。结果采用甲醇-0.4%磷酸(50:50)、乙腈-0.2%磷酸(30:70)时,木犀草素与干扰峰未能完全分离^[4],乙腈-0.2%磷酸(26:74)分离效果最佳,故选择。

参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海人民出版社, 1977.
- [2] 国家中成药标准汇编[S]. 内科心系分册,2002.
- [3] 王宪楷. 天然药物化学[M]. 第2版. 北京:人民卫生出版社, 1994.
- [4] 刘成红,曹红,邢俊波. HPLC法测定广东紫珠及其制剂宫复康胶囊中木犀草素[J]. 中草药,2006,37(4):539-541.

综合评分法优化蒜油的-环糊精包合工艺

刘毅,张丽艳*,谢宇,罗君,李健

(贵阳中医学院药理学系,贵州贵阳 550002)

摘要:目的 优选蒜油-环糊精包合的最佳工艺。方法 以包合物收得率和大蒜素利用率为测评指标,采用正交设计综合评分法优化蒜油-环糊精包合工艺。结果 优选出包合工艺条件为:大蒜油、-环糊精和水比例为 1:8:80,包合时间 1 h,包合温度 35。结论 蒜油的包合方法合理可行。

* 收稿日期:2008-10-10

基金项目:中药现代化科技产业研究开发专项项目[黔科合中药专字(2004)13号],贵州省科技厅专项项目

作者简介:刘毅(1966—),女,贵州贵阳人,副教授,主要从事药物制剂教学与新剂型、新制剂开发。

Tel:13984016122 E-mail:liuyi6604@126.com

*通讯作者 张丽艳 Tel:(0851)5929104 E-mail:zly1964@163.com