

HPLC法同时测定好胃来软胶囊中木香炔内酯和去氢木香内酯的含量^Δ

赵明明*, 陈宇婷, 黄帮蕊, 金向群[#](吉林大学药学院, 长春 130021)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)15-2099-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.15.28

摘要 建立同时测定好胃来软胶囊中木香炔内酯和去氢木香内酯含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Dikma C₁₈,流动相为乙腈-水(V/V,55:45),流速为1.0 ml/min,检测波长为225 nm,柱温为25 ℃,进样量为10 μl。结果:木香炔内酯、去氢木香内酯检测质量浓度线性范围分别为24.00~108.00 μg/ml($r=0.9997$)、20.88~93.98 μg/ml($r=0.9998$);精密性、稳定性、重复性试验的RSD<1%;加样回收率分别为98.71%~100.00%(RSD=0.25%, $n=6$)、96.88%~99.18%(RSD=0.40%, $n=6$)。结论:该方法操作简便、稳定性和重复性好,可用于好胃来软胶囊中木香炔内酯和去氢木香内酯含量的同时测定。

关键词 好胃来软胶囊;高效液相色谱法;木香炔内酯;去氢木香内酯

Simultaneous Determination of the Costunolide and Dehydrocostus Lactone in Haowelai Soft Capsule by HPLC

ZHAO Mingming, CHEN Yuting, HUANG Bangrui, JIN Xiangqun (School of Pharmacy, Jilin University, Changchun 130021, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the simultaneous determination of costunolide and dehydrocostus lactone in Haowelai soft capsule. METHODS: HPLC was performed on the column of Dikma C₁₈ with mobile phase of acetonitrile - water (V/V, 55:45) at a flow rate of 1.0 ml/min, detection wavelength was 225 nm, column temperature was 25 ℃, and the injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear range were 24.00-108.00 μg/ml ($r=0.9997$) for costunolide and 20.88-93.98 μg/ml for dehydrocostus lactone ($r=0.9998$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 1%; recoveries were 98.71%-100.00% (RSD=0.25%, $n=6$) and 96.88%-99.18% (RSD=0.40%, $n=6$). CONCLUSIONS: The method is simple with good stability and reproducibility, and can be used for the simultaneous determination of costunolide and dehydrocostus lactone in Haowelai soft capsule.

KEYWORDS Haowelai soft capsule; HPLC; Costunolide; Dehydrocostus lactone

试验是依据2015年版《中国药典》(一部)龙胆项下鉴别方法进行,采用乙酸乙酯-甲醇-水(10:2:1, V/V/V)作为展开剂,可得到清晰的斑点,将展开剂更换为乙酸乙酯-甲醇-水(15:2:1, V/V/V),亦可得到清晰的斑点。

查阅相关文献,龙胆中主要成分为龙胆苦苷^[11-12],本试验以水为溶剂进行提取,水溶性成分龙胆苦苷的含量较高,可为龙胆的应用开发提供新的途径。

综上所述,本研究所建标准可用于龙胆配方颗粒的质量控制。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版. 北京:中国医药科技出版社, 2015:96.
- [2] 吴镛, 赵忠慧. 中药配方颗粒的应用与研究[J]. 中国医药导报, 2011, 8(25):10.
- [3] 仇法新, 高福君. 中药配方颗粒的发展现状及应用前[J]. 中国药房, 2007, 18(3):163.

- [4] 张红梅, 宋景政, 谭红胜, 等. 中药配方颗粒20年回顾与展望[J]. 世界科学技术, 2012, 14(4):1740.
- [5] 朱鹤云, 关皎, 郭小存, 等. RP-HPLC法同时测定龙胆中3种活性成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(12):2298.
- [6] 冯波, 朱鹤云, 关皎, 等. HPLC同时测定龙胆中4种活性成分含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(13):82.
- [7] 杨书彬, 王承. 龙胆化学成分和药理作用研究进展[J]. 中医药学报, 20005, 33(6):54.
- [8] 唐庆栓. 龙胆的临床研究进展[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2011, 32(13):2156.
- [9] 韩炜, 周刚, 康廷国. 从美国首个批准植物药veregen软膏看我国中药质量控制[J]. 中国新药与临床杂志, 2010, 29(4):244.
- [10] 郑楠楠, 王宝庆, 孙晓雪, 等. 龙胆质量检测方法的研究进展[J]. 生命科学仪器, 2014, 12(2):25.
- [11] 敖茂宏, 宋智琴. 黔产龙胆不同部位中龙胆苦苷的含量测定[J]. 西南农业学报, 2010, 23(5):1773.
- [12] 王琳琳, 宋新波, 李薇, 等. 龙胆中龙胆苦苷的分离纯化[J]. 现代中药研究与实践, 2013, 27(5):38.

(收稿日期:2016-01-15 修回日期:2016-02-21)

(编辑:张静)

Δ 基金项目:吉林省科技发展计划项目(No.20130727072YY)

* 硕士研究生. 研究方向:新药研发与新剂型. E-mail: 929527931@qq.com

通信作者:教授, 博士生导师. 研究方向:新药研发与新剂型. E-mail: 13844090377@163.com

好胃来软胶囊包含两种天然橄榄油和天然木香油,该胶囊中的木香油选用CO₂超临界萃取法所得到的成分主要为挥发油类^[1],可保护人体胃黏膜、调节胃肠运动^[2-5],其中木香烯内酯和去氢木香内酯为主要有效成分^[6-8]。本研究采用高效液相色谱(HPLC)法对制剂中木香烯内酯和去氢木香内酯的含量进行测定^[9-11],同时检验该提取方法的可行性,为该制剂提供更好的质量控制方法。

1 材料

1.1 仪器

LC-20AT型HPLC仪,包括紫外检测器(日本Shimadzu公司);JT2001型电子天平(上海精天电子仪器有限公司);KQ-250D型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);AB204-N型分析天平(瑞士Mettler-Toledo公司);HH-2型数显恒温水浴锅(金坛市江南仪器厂)。

1.2 药品与试剂

好胃来软胶囊(吉林省辉南三和制药有限公司,批号:140501、140502、140503,规格:0.5 g/粒);去氢木香内酯对照品(批号:111525-201307,纯度≥98.8%)、木香烯内酯对照品(批号:111524-201302,纯度≥98.5%)均购自吉林省药品生物制品检定所;乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为纯净水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Dikma C₁₈(100 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(55:45, V/V);流速:1.0 ml/min;检测波长:225 nm;柱温:25℃;进样量:10 μl。

2.2 溶液的制备

2.2.1 混合对照品溶液 精密称取经过干燥48 h的木香烯内酯、去氢木香内酯对照品适量,加甲醇溶解制成木香烯内酯、去氢木香内酯质量浓度分别为92.23、80.45 μg/ml的混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取样品内容物1.5 g,置于50 ml锥形瓶中,用25 ml乙醚溶解,转移至分液漏斗中,再加入50%甲醇25 ml进行萃取,留取甲醇层液,重复操作2次,合并提取液,蒸干,残渣用甲醇溶解,移至50 ml量瓶中,用甲醇定容,称定质量,在25℃下超声(功率:35 W,频率:40 kHz)处理10 min,放冷,再次称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.3 阴性对照溶液 按好胃来软胶囊处方和制备工艺制备缺木香的阴性样品,并按“2.2.2”项下方法制成阴性对照溶液。

2.3 系统适用性试验

精密吸取“2.2”项下对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液各10 μl,分别按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果,供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应保留时间处有相应色谱峰,阴性对照溶液在此保留时间处无相应色谱峰,表明其对检测无干扰。理论板数以去氢木香内酯和木

香烯内酯峰计分别不低于5 000和4 500,分离度>1.5。色谱见图1。

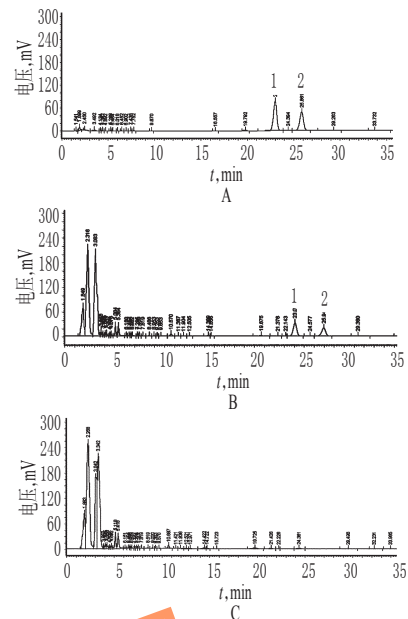


图1 高效液相色谱图

A.混合对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.木香烯内酯;2.去氢木香内酯

Fig 1 HPLC chromatograms

A.mixed reference substance; B.test sample; C.negative control; 1. costunolide; 2. dehydrocostus lactone

2.4 线性关系考察

分别精密称取木香烯内酯、去氢木香内酯对照品适量,用甲醇制成木香烯内酯、去氢木香内酯质量浓度分别为120.00、104.42 μg/ml的单一对照品溶液;分别精密量取上述单一对照品溶液2、4、6、8、9 ml,置于10 ml量瓶中,用甲醇定容,制成系列单一对照品溶液。精密量取上述系列单一对照品溶液各10 μl,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以香烯内酯、去氢木香内酯质量浓度(x, μg/ml)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $y=20\ 000\ 000x+12\ 781$ ($r=0.999\ 7$)、 $y=10\ 000\ 000x-9506.3$ ($r=0.999\ 8$)。结果表明,木香烯内酯、去氢木香内酯检测质量浓度线性范围分别为24.00~108.00、20.88~93.98 μg/ml。

2.5 精密度试验

取“2.2.1”项下对照品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,木香烯内酯、去氢木香内酯峰面积的RSD分别为0.39%、0.66% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验

取“2.2.2”项下供试品溶液(批号:140501)适量,分别于室温下放置0、2、4、6、8、12、16、24 h时进样测定,记录峰面积。结果,木香烯内酯、去氢木香内酯峰面积的RSD分别为0.21%、0.37% ($n=8$),表明供试品溶液在24 h内基本稳定。

2.7 重复性试验

精密称取同一批样品(批号:140501)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.1”项下色谱条件进样测

定,记录峰面积。结果,木香烃内酯、去氢木香内酯峰面积的RSD分别为0.24%、0.12%($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.8 加样回收率试验

取已知含量样品(批号:140501)适量,共6份,分别加入一定质量的木香烃内酯、去氢木香内酯对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算样品含量并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果($n=6$)

Tab 1 Results of recovery test($n=6$)

待测成分	取样量,g	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
木香烃内酯	0.285 5	5.101 0	5.023 4	10.100 0	99.51	99.64	0.25
	0.286 1	5.110 0	5.100 0	10.211 0	100.00		
	0.286 7	5.120 2	5.120 0	10.241 1	100.00		
	0.287 1	5.127 5	5.012 4	10.130 0	99.80		
	0.286 8	5.123 4	5.045 4	10.160 1	99.83		
	0.286 3	5.113 4	5.102 3	10.150 1	98.71		
去氢木香内酯	0.374 1	7.234 0	6.024 4	13.209 0	99.18	98.06	0.40
	0.374 8	7.246 6	6.102 3	13.248 2	98.35		
	0.374 7	7.245 6	6.002 3	13.088 8	97.35		
	0.375 3	7.256 4	6.101 3	13.288 8	98.87		
	0.372 8	7.208 2	6.104 4	13.122 2	96.88		
	0.374 5	7.239 8	6.100 0	13.200 0	97.71		

2.9 样品含量测定

取3批样品各适量,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算样品含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果($n=3$)

Tab 2 Results of content determination of sample($n=3$)

样品批号	木香烃内酯,mg/粒	去氢木香内酯,mg/粒	总量,mg/粒
140501	8.931	9.726	18.657
140502	8.876	9.666	18.542
140503	8.800	9.800	18.600

3 讨论

3.1 提取工艺的研究

木香药材主要是挥发油类成分,提取方法多种多样,目前应用较多的包括溶剂萃取法、超声萃取法、CO₂超临界萃取法。由于木香成分为油类,应用水提取所得的成分较少;应用乙醇提取非常容易引进外源杂质,对纯度有影响;而超声波提取法不适用于大生产,目前仅限于实验室小规模操作^[12]。在本制剂研制过程中本课题组采取了CO₂超临界萃取法,该方法的优点主要体现在:(1)萃取迅速、耗时短;(2)无应用外源溶剂,因此没有残留的有机溶剂,更不会出现杂质;(3)方法经历的流程比较简单,操作与其他提取方法相比较非常方便,无需大量人力物力^[13]。本课题组通过反复研究试验,优选CO₂超临界萃取技术的工艺参数,并且最终确定了木香药材的最佳提取工艺,即萃取时间2.5 h、超临界流体CO₂体积流量为药材粉末的10倍、萃取压力15 MPa、萃取温度50℃^[14-15]。

3.2 质量控制方法

由于本制剂成分组成主要是天然的木香和橄榄油,而木香的主要成分为木香烃内酯和去氢木香内酯,对于这两种成分在《中国药典》上记录了成熟的分析检测方法,以乙腈-水(55:45, V:V)为流动相,二者的检测波长定为225 nm。本试验结果表明,本含量测定方法可行,重复性好、样品分离度好、阴性样品无任何干扰,适用于本制剂中木香烃内酯、去氢木香内酯含量的同时测定。

参考文献

- [1] 许卉,王峥涛,刘生生,等.多指标综合评分法优选木香挥发油提取工艺[J].中国药理学杂志,2011,41(16):1 214.
- [2] 梅杰,李芳,陈建敏,等.胃黏膜屏障与胃溃疡的研究进展[J].实用医学杂志,2011,25(6):841.
- [3] 冯筱.胃溃疡患者的保健探讨[J].家庭医药:医药论坛,2010(7):528.
- [4] 刘菲,陆玮,陆震宇.肝胃宁对大鼠胃黏膜的保护作用及临床研究[J].中国新药与临床杂志,1998,17(1):20.
- [5] 李峰,曾德志,王国珍.雷笋提取液对大鼠实验性肝损伤的保护作用[J].现代中西医结合杂志,2012,21(9):935.
- [6] 林明侠.木香的药理及临床研究概况[J].中医药信息,2005,22(3):935.
- [7] 王永兵,许华,王强.RP-HPLC法测定川木香中木香烃内酯和去氢木香内酯的含量[J].西北药学杂志,2012,15(6):250.
- [8] 刘俊红,李棣华,伍孝先.提取木香中木香烃内酯及去氢木香内酯影响因素的初步研究[J].时珍国医国药,2011,20(12):3 013.
- [9] 许卉,王峥涛,刘生生,等.RP-HPLC法测定二十五味珍珠丸中木香烃内酯和去氢木香内酯的含量[J].中国药房,2013,24(6):1 904.
- [10] 温辉.RP-HPLC法测定胃痛七味散中木香烃内酯和去氢木香内酯的含量[J].中国药房,2010,21(35):3 333.
- [11] 乌拉布音.HPLC法测定勃仁达尔干汤中去氢木香烃内酯的含量测定[J].北方药学,2012,9(9):6.
- [12] 鲁晓光.木香精油最佳提取工艺的研究[J].中国野生植物资源,2012,31(4):5.
- [13] 陈虹,邓修.木香挥发油的超临界CO₂萃取及质量研究[J].中草药,2013,44(28):337.
- [14] 杨月琴,彭敏,胡凤祖.青藏高原藏木香总黄酮提取工艺研究及含量测定[J].食品工业科技,2011,2(32):251.
- [15] 周广涛,高鹏,戴兵,等.木香中去氢木香内酯和木香烃内酯提取工艺优选[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(2):40.

(收稿日期:2015-12-31 修回日期:2016-03-01)

(编辑:张 静)