

RP-HPLC法测定二十五味珍珠丸中木香炔内酯和去氢木香内酯的含量^Δ

刘鸿雁^{1*},姜专基²,陈德道¹,张樱山¹,陈丽娟¹,陈根平¹(1.甘肃奇正藏药有限公司药品研发部,兰州 730000; 2.甘肃省肿瘤医院乳腺科,兰州 730050)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)20-1904-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.20.30

摘要 目的:建立测定藏成药二十五味珍珠丸中木香炔内酯和去氢木香内酯含量的方法。方法:采用反相高效液相色谱法。色谱柱为Kromasil C₁₈柱,流动相为甲醇-水(65:35, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为225 nm,柱温为30 ℃,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分别在12~120、17~170 μg/ml范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系($r=0.9997$ 和 0.9996);平均加样回收率分别为100.90%和100.35%,RSD分别为1.23%和0.95%。结论:该方法专属性强、灵敏度高、重复性好,适用于二十五味珍珠丸的质量控制。

关键词 二十五味珍珠丸;木香炔内酯;去氢木香内酯;反相高效液相色谱法;含量测定

Content Determination of Costunolide and Dehydrocostus Lactone in Tibetan Medicine Ershiwuwei Zhenzhu Pill by RP-HPLC

LIU Hong-yan¹, JIANG Zhuan-ji², CHEN De-dao¹, ZHANG Ying-shan¹, CHEN Li-juan¹, CHEN Gen-ping¹(1. Dept. of Research and Development, Gansu Qizheng Tibetan Pharmaceutical Co., Ltd., Lanzhou 730000, China; 2. Dept. of Breast Surgery, Tumor Hospital of Gansu Province, Lanzhou 730050, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To develop a method for the content determination of costunolide and dehydrocostus lactone in Tibetan medicine Ershiwuwei zhenzhu pill. METHODS: RP-HPLC method was used. The separation was performed on Kromasil C₁₈ column with methanol-water (65:35, V/V) as mobile phase at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 225 nm, and column temperature was 30 ℃. The injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear ranges were 12-120 μg/ml for costunolide ($r=0.9997$) and 17-170 μg/ml for dehydrocostus lactone ($r=0.9996$). The average recoveries were 100.90% (RSD=1.23%) and 100.35% (RSD=0.95%), respectively. CONCLUSIONS: The method has good specificity, high sensitivity and good repeatability. It can be used for the content determination of costunolide and dehydrocostus lactone in Tibetan medicine Ershiwuwei zhenzhu pill.

KEY WORDS Ershiwuwei zhenzhu pill; Costunolide; Dehydrocostus lactone; RP-HPLC; Content determination

三级甲等医院的需求。

虽然头孢类抗菌药物无论使用频次还是占抗菌药物总使用频次的比例都排第一,但头孢类抗菌药物中的国家基本药物的使用频次及占比都非常小,说明头孢类抗菌药物中的国家基本药物品种不能满足特大型三级甲等医院的需求。

4 结语

我院门诊处方抗菌药物的使用情况基本合理,但仍需加大力度宣传抗菌药物合理应用,同时还需继续加强对临床医师合理使用抗菌药物的培训,以确保患者用药安全、有效、经济,减少耐药菌的产生。

参考文献

[1] 赵春杰.我国每年有20万人死于药品不良反应-关爱生命,合理使用抗生素[EB/OL].(2011-07-25)[2013-01-

25]. <http://health.people.com.cn/GB/15241845.html>.

[2] 姜虹.公众安全用药现状调查出炉[N].中华工商时报,2012-9-19(6).

[3] 张萃鳌,田秀华.2001年至2004年我院抗生素利用调查分析[J].实用医技杂志,2005,12(8):2077.

[4] 张永信.注重科学的抗菌给药方案[J].上海医药,2012,33(12):9.

[5] 黄长武,黄坤容,邱君凤.大肠埃希菌耐药性分析[J].中国抗感染与化疗杂志,2004,4(6):356.

[6] 孟庆明,曹风梅.试论β内酰胺类与大环内酯类抗生素联合应用的合理性[J].中华结核和呼吸杂志,2003,26(11):68.

[7] 马越.合理利用抗生素资源,遏制细菌耐药性蔓延[J].中国药房,2011,22(26):2401.

(收稿日期:2013-01-30 修回日期:2013-02-25)

Δ 基金项目:国家科技支撑计划课题(No. 2007BAI311304)

* 工程师,硕士。研究方向:藏药质量标准。电话:0931-8558452。E-mail:liuhongyan503@163.com

二十五味珍珠丸系藏族验方,是由珍珠、肉豆蔻、石灰华、草果、丁香、西红花、木香等药味加工制成的丸剂。该药收载于《中国药典》2010年版(一部),用于中风、半身不遂、口眼歪斜、昏迷不醒、神志紊乱、谵语发狂等。处方中木香具有行气止痛、健脾消食之功效,用于胸胁、脘腹胀痛,泻痢后重,食积不消,不思饮食。二十五味珍珠丸被《中国药典》收载多次,1995年版、2000年版、2005年版收载的质量标准都是:牛黄薄层鉴别、珍珠薄层鉴别;2010年版收载的质量标准是:牛黄薄层鉴别、珍珠薄层鉴别、西红花苷-I含量测定。在含量测定方面,原质量标准中没有木香炔内酯和去氢木香内酯的含量测定指标。为此,本试验采用反相高效液相色谱(RP-HPLC)对方中木香主要成分木香炔内酯和去氢木香内酯的含量进行了测定。

1 材料

1.1 仪器

1100型HPLC仪,包括四元溶剂泵、脱气机、自动进样器、柱温箱、光电二级管阵列检测器及软件(美国Agilent公司);XS205型分析天平(瑞士Mettler Toledo公司,精密度:十万分之一);SK8200HP超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

木香炔内酯、去氢木香内酯对照品(中国食品药品检定研究院,批号:111524-201006、111525-200907);二十五味珍珠丸(甘南佛阁藏药有限公司,批号:100201、100202;西藏自治区藏药厂,批号:09311A、09283A、09029A;西藏昌都藏药厂,批号:20100821、20110328);甲醇(美国Fisher公司,色谱纯;天津市百世化工有限公司,分析纯);超纯水(本实验室自制,pH 6.7~7.0)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Kromasil C₁₈(4.6×250 mm, 5.0 μm);流动相:甲醇-水(65:35, V:V);流速:1.0 ml/min;检测波长:225 nm;柱温:30 ℃;进样量:10 μl。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 取木香炔内酯、去氢木香内酯对照品适量,精密称定,加甲醇制成每1 ml含木香炔内酯40 μg、去氢木香内酯70 μg的溶液,摇匀,即得。

2.2.2 供试品溶液的制备 取二十五味珍珠丸约0.5 g,研细,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入甲醇5 ml,称定质量,超声处理(功率:250 W,频率:40 kHz)30 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得^[1]。

2.2.3 阴性对照溶液的制备 取缺木香药材的阴性样品0.5 g,按“2.2.2”项下方法制备,即得^[2-4]。

2.3 系统适用性及阴性干扰试验

精密吸取供试品溶液、对照品溶液和阴性对照溶液各10 μl,注入HPLC仪中进样,色谱见图1。由图1可知,在与对照品色谱峰保留时间相应的位置上,供试品有色谱峰出现,而阴性对照无色谱峰出现,故本品中其他组分对木香炔内酯和去氢木香内酯的含量测定无干扰。在该色谱条件下,木香炔内酯和去氢木香内酯与其他组分峰分离效果较好,理论板数按木香炔内酯峰计算应不低于3 000^[1,5-6]。

2.4 线性关系考察

取木香炔内酯、去氢木香内酯对照品适量,精密称定,加

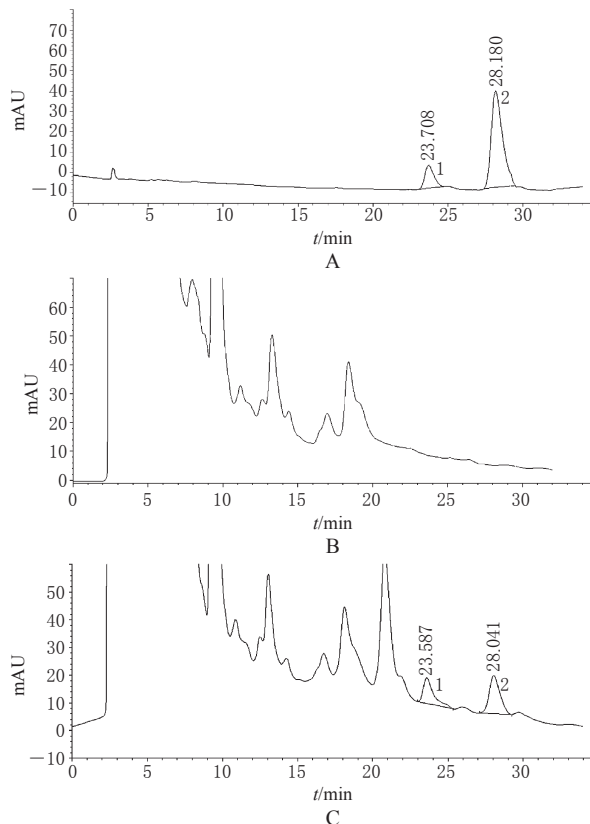


图1 高效液相色谱图

A.对照品;B.阴性对照;C.供试品;1.木香炔内酯;2.去氢木香内酯;

Fig 1 HPLC chromatograms

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

甲醇制成每1 ml含木香炔内酯120 μg和去氢木香内酯170 μg的混合溶液,摇匀,作为贮备液。分别精密吸取上述贮备液1、2、3、4、5、6、10 ml,置10 ml量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,各精密量取10 μl,分别注入HPLC仪,按“2.1”项下色谱条件进样。以待测成分进样质量浓度(x)为横坐标,峰面积(y)为纵坐标绘制标准曲线,得木香炔内酯、去氢木香内酯的回归方程分别为 $y=23.793x+10.253$ ($r=0.9997$)、 $y=14.982x+0.0062$ ($r=0.9996$)。结果表明,木香炔内酯、去氢木香内酯检测质量浓度分别在12~120、17~170 μg/ml范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

2.5 精密度的试验

精密吸取“2.2.1”项下同一对照品溶液10 μl,连续进样5次,进行测定。结果,RSD分别为0.61%和1.34%,表明本方法精密度的良好。

2.6 稳定性试验

精密吸取“2.2.2”项下同一供试品溶液10 μl,分别于0、2、4、6、12 h进样测定。结果,RSD分别为0.79%和1.55%,表明供试品在12 h内稳定性良好。

2.7 重复性试验

取样品(批号:100202)适量,共6份,按照“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别进样测定,计算木香炔内酯和去氢木香内酯的含量、总含量及RSD。结果,木香炔内酯、去氢木香内酯含量及总含量的RSD分别为0.44%、0.71%和0.64%,表明本方法的重复性良好。

2.8 加样回收率试验

取已知含量的样品(批号:100201)粉末约0.5 g,精密称定,加入一定量的木香炔内酯和去氢木香内酯对照品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进样测定,根据峰面积值分别求得木香炔内酯和去氢木香内酯的含量,计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果(n=9)

Tab 1 Results of recovery test(n=9)

成分	称样量, g	所含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
木香炔内酯	0.490 1	0.453 3	0.61	1.073 0	101.58	100.90	1.23
	0.492 0	0.455 1	0.61	1.070 5	100.89		
	0.490 5	0.453 7	0.61	1.069 1	100.88		
	0.499 3	0.461 9	0.88	1.364 0	102.52		
	0.499 1	0.461 7	0.88	1.353 8	101.38		
	0.498 9	0.461 5	0.88	1.338 0	99.60		
	0.500 1	0.462 6	1.02	1.489 0	100.63		
	0.503 2	0.465 5	1.02	1.507 2	102.13		
	0.502 9	0.465 2	1.02	1.470 0	98.51		
去氢木香内酯	0.490 1	0.657 2	0.33	0.993 1	101.78	100.35	0.95
	0.492 0	0.659 8	0.33	0.989 0	99.77		
	0.490 5	0.657 8	0.33	0.988 8	100.32		
	0.499 3	0.669 6	0.45	1.122 1	100.56		
	0.499 1	0.669 3	0.45	1.124 1	101.07		
	0.498 9	0.669 0	0.45	1.120 0	100.22		
	0.500 1	0.670 6	0.56	1.230 1	99.90		
	0.503 2	0.674 8	0.56	1.226 1	98.45		
	0.502 9	0.674 4	0.56	1.240 5	101.09		

2.9 样品含量测定

分别取各批样品约0.5 g,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进样测定峰面积,计算木香炔内酯和去氢木香内酯的含量,结果见表2。

3 讨论

由于原标准对二十五味珍珠丸中木香未进行定量控制^[1,5-7],因此本试验采用RP-HPLC法测定其中木香炔内酯、去氢木香内酯的含量及总含量。方法学验证结果表明,含量测定方法可行,重复性良好、分离度好、阴性无干扰,故本方法适用于二十五味珍珠丸中木香炔内酯、去氢木香内酯的定量控制。

《中国药典》中测定木香药材成分用甲醇和水为流动相,笔者将甲醇改为乙腈后,发现色谱峰的分度好,但是出峰时间太快,使复方制剂中的杂质和目标峰很难分开,因此最终用

表2 样品含量测定结果(n=3)

Tab 2 Results of content determination of samples(n=3)

厂家和批号	木香炔内酯,mg/g	RSD,%	去氢木香内酯,mg/g	RSD,%	总量,mg/g
西藏昌都20100821	0.692	1.02	1.064	0.61	1.756
西藏昌都20110328	0.668	1.24	1.029	0.78	1.697
甘南佛阁100202	0.925	0.92	1.341	1.20	2.266
甘南佛阁100201	1.177	1.02	1.479	0.91	2.656
西藏自治区09311A	0.489	0.78	1.099	0.78	1.588
西藏自治区09283A	0.599	0.91	1.012	0.63	1.611
西藏自治区09029A	0.530	1.03	1.122	1.07	1.652

甲醇和水为流动相;在溶剂的选择与提取中发现,甲醇超声30 min最理想;柱温在20、25℃时分离效果差,在30、35℃时无显著差别,最终选择30℃;参考文献^[2-4]选择225 nm作为检测波长。

《中国药典》2010年版(一部)木香中木香炔内酯、去氢木香内酯的总含量限度为1.8%^[1],《中国药典》1995年版(一部)收载的二十五味珍珠丸中木香的处方比例为:80 g/1 422 g×100%=5.63%^[5],按此最低限度折算到二十五味珍珠丸中总含量为:5.63%×18 mg/g=1.013 mg/g。而本次测得3个厂家7批样品中木香炔内酯、去氢木香内酯的总含量均超过1.013 mg/g,表明均合格。综上所述,本试验建立的含量测定方法可为藏成药二十五味珍珠丸开展进一步的质量标准研究工作提供基础。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:408.
- [2] 常炜.HPLC法测定智托洁白丸中木香炔内酯和去氢木香内酯[J].中成药,2011,33(11):1 923.
- [3] 孙全明,朱朝德,李春雨,等.HPLC测定木香分气丸中5种成分的含量[J].中成药,2008,30(1):74.
- [4] 张海英,李玲,薛洁.肠胃片的质量标准研究[J].中国药房,2012,23(19):1 788.
- [5] 卫生部药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].1995年版.北京:化学工业出版社,1995:346.
- [6] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2000年版.北京:化学工业出版社,2000:323.
- [7] 卫生部药典委员会.中华人民共和国卫生部药品标准:藏药:第一册[S].1995:154.

(收稿日期:2012-09-20 修回日期:2013-03-22)

国家卫生和计划生育委员会主任李斌赴震区慰问医护人员部署医疗救援工作

本刊讯 2013年4月20日晚,国家卫生和计划生育委员会主任李斌赴芦山县人民医院和国家紧急医学救援队慰问医护人员,并主持召开专题会议,研究部署七方面的医疗卫生救援工作:一是尽快将医疗资源覆盖到重灾县的全部乡镇,立即派7个医疗队进入宝兴县的7个尚未覆盖医疗服务的乡镇;二是强化重症伤员救治,集中优势医疗资源,按照“集中伤员、集中专家、集中资源、集中救治”的“四集中”救治原则,降低伤员死亡率和致残率;三是完善指挥机制,医疗救援工作在四川省

政府的统一领导下,实现军警地一体化,所有医疗救援力量听从抗震救灾指挥部的统一指挥,积极开展各项救灾工作;四是科学开展灾后防疫,实现灾区卫生防疫工作全覆盖;五是强化安全管理,改善医疗环境,尽快将医疗卫生机构过渡板房建设提到议事日程,适时启动永久性建筑重建工作;六是启动灾后心理危机疏导和地震伤员的康复工作;七是加强健康教育和舆论宣传工作,及时发布患者救治和防疫工作信息。