

参考文献:

- [1] 谢 燕,李国文,马越鸣. 大黄多糖研究进展[J]. 中药新药杂志, 2010, 19(9): 755-758.
- [2] 李道中. 掌叶大黄多糖对高血糖小鼠及正常小鼠的降糖作用[J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27(3): 309-310.
- [3] 姚广涛,张冰冰,何丽君,等. 掌叶大黄多糖抗氧化作用的实验研究[J]. 中医药学刊, 2004, 22(7): 1295.
- [4] 明彤文,明月,金槿实. 掌叶大黄多糖对 K562 细胞杀伤作用的研究[J]. 吉林中医药, 2001, 21(3): 59-60.
- [5] 金槿实,李 锐,明月,等. 掌叶大黄多糖对肿瘤细胞 DNA 合成抑制作用的研究[J]. 吉林中医药, 1999(4): 58-59.
- [6] 纪耀华,纪跃芝,马爱民,等. 微波法提取大黄多糖最佳工艺优化研究[J]. 中药材, 2009, 32(8): 1291-1293.
- [7] 纪耀华,马爱民,孙 莹,等. 大黄多糖传统水提法最佳工艺优化研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(3): 634-635.
- [8] 孙 莹,纪跃芝,马爱民,等. 水提-醇沉法提取大黄多糖工艺优化研究[J]. 中国实用医药, 2010, 5(18): 6-8.
- [9] 刘 莉,王志鹏,梅其炳,等. 大黄多糖提取工艺对糖含量和糖醛酸含量的影响[J]. 中国药学杂志, 2003, 38(10): 748-750.
- [10] 天 芹,傅 鑫,干盈盈,等. 大黄多糖的提取和理化性质的研究[J]. 中国实用医药, 2007, 2(23): 17-18.
- [11] 张思巨,张淑运,王 岚,朱 斌. 大黄多糖的研究[J]. 中国中药杂志, 1993, 18(11): 679-681.
- [12] 倪受东,严德江,徐先祥. 大黄多糖的提取及含量测定[J]. 中国药业, 2007, 16(13): 10-11.

三种裸花紫珠制剂中木犀草素的测定

石天松

(广西南宁食品药品检验所, 广西 南宁 530001)

摘要: 目的 建立高效液相色谱法测定裸花紫珠制剂中木犀草素。方法 色谱柱 Agilent TC-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 柱温 35 ℃; 流动相 甲醇-0.4% 磷酸溶液 (48:52); 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 350 nm。结果 木犀草素质量分数在 1.73 mg/g 以上, 平均回收率为 98.27%, 所得结果的 RSD 值均小于 1.80%。结论 本方法简便、快速、重复性好, 可有效控制裸花紫珠制剂中木犀草素的质量。

关键词: 裸花紫珠制剂; 木犀草素; HPLC

中图分类号: R927.2

文献标志码: B

文章编号: 1001-4528(2011)10-2015-03

裸花紫珠为马鞭草科植物裸花紫珠 *Callicarpa nudiflora* Hook. et Arn. 的干燥叶, 具有消炎、解毒、收敛、止血之功效, 用于化脓性炎症、急性传染性肝炎、烧伤或烫伤、外伤出血等。据文献报道^[1] 从裸花紫珠药材中分离出木犀草素、熊果酸、齐墩果酸等化合物, 而木犀草素及其配糖体是裸花紫珠中含量较多的成分, 已有文献报道^[2-4] 木犀草素有抗炎作用、抗肿瘤、心脏保护作用。目前临床主要应用单味制剂^[5-7] 有分散片、薄膜衣片、胶囊剂、栓剂等剂型, 但原质量标准中含量测定多采用分光光度法测定黄酮类总量, 专属性不强, 为了更好地控制该类制剂的质量标准, 本试验以 3 种制剂(裸花紫珠分散片、裸花紫珠片、裸花紫珠胶囊)为研究对象, 采用高效液相色谱法测定制剂中木犀草素含量的方法, 以便更好地控制药品的内在质量, 保证临床用药的安全有效。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 LC-2010AHT 高效液相色谱仪(日本岛津); LCsolution 色谱工作站; BP211D 电子天平(德国赛多利斯);

AJ150 电子天平(瑞士梅特勒)。

1.2 试剂 木犀草素(中国药品生物制品检定所提供, 批号: 110520-200504, 含量测定用); 甲醇(色谱纯); 磷酸(色谱纯); 水(超纯水); 其余试剂均为分析纯。样品为市售裸花紫珠制剂, 来源于成都华宇制药有限公司、海南九芝堂有限公司、江西杏林白马药业有限公司等。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱: Agilent TC-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 柱温: 35 ℃; 流动相: 甲醇-0.4% 磷酸溶液 (48:52); 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长: 350 nm。此色谱条件下, 供试品中木犀草素与相邻的色谱峰达到基线分离, 结果见图 1~4。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取木犀草素对照品 10.55 mg 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液贮备液。精密量取贮备液 1 mL 至 10 mL 量瓶中, 摇匀, 作为对照品溶液。

收稿日期: 2011-04-07

作者简介: 石天松(1968—), 男, 副主任药师, 主要从事中药制剂的分析研究。Tel: (0771) 3906191, E-mail: sts@nnifdc.com

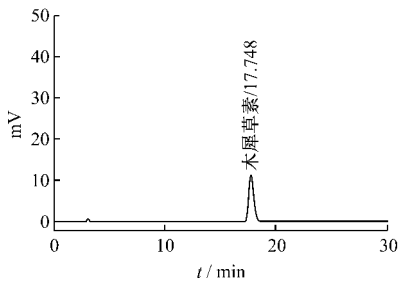


图 1 木犀草素对照品 HPLC 色谱图

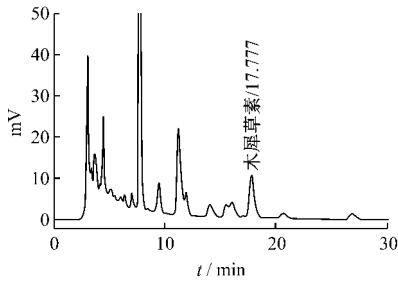


图 2 裸花紫珠分散片供试品 HPLC 色谱图

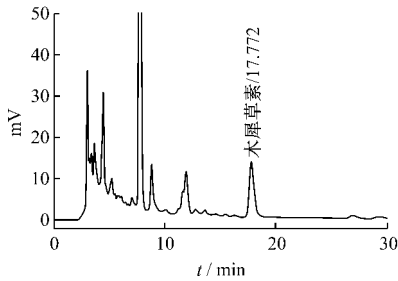


图 3 裸花紫珠胶囊供试品 HPLC 色谱图

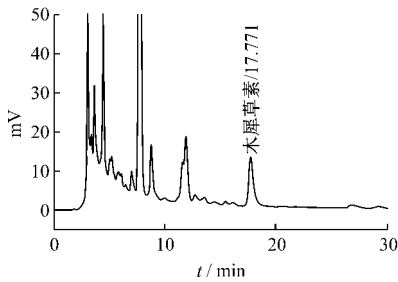


图 4 裸花紫珠片供试品 HPLC 色谱图

2.2.2 供试品溶液的制备

取裸花紫珠分散片 20 片,精密称定,研细,取约 0.25 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加 2.5 mol/L 盐酸甲醇溶液 20 mL,称定质量,于水浴中加热水解 30 min,放冷,用甲醇补足质量,摇匀,过 0.45 μm 滤膜,作为供试品溶液。

取裸花紫珠胶囊 10 粒,精密称定,研细,取约 0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加 2.5 mol/L 盐酸甲醇溶液 20 mL,称定质量,于水浴中加热水解 30 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足质量,摇匀,过 0.45 μm 滤膜,作为供试品溶液。

取裸花紫珠片 20 片,精密称定,研细,取约 0.2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,加 2.5 mol/L 盐酸甲醇溶液 20 mL,称定质量,于水浴中加热水解 30 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足质量,摇匀,过 0.45 μm 滤膜,作为供试品溶液。

2.3 线性关系考察 分别精密量取对照品溶液加甲醇制成 2.11、5.275、10.55、21.1、42.2 μg/mL 5 个质量浓度对照品溶液,按上述色谱条件分别进样 10 μL,测定峰面积,以进样量为横坐标,以峰面积为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程 $Y = 3.2984 \times 10^6 X + 12268$, $r = 0.9996$ 。结果表明,木犀草素在 0.021 1 ~ 0.422 μg 范围之间呈良好的线性关系。

2.4 精密度试验 取裸花紫珠分散片供试品溶液 1 份,按上述色谱条件,重复进样 6 次,以测得峰面积计算,结果 RSD 为 0.98%。表明仪器的精密度良好。

2.5 重复性试验 取裸花紫珠分散片、裸花紫珠胶囊、裸花紫珠片样品,分别按供试品溶液的制备方法各平行制备 6 份供试品溶液,测定木犀草素含量,结果 RSD 分别为 1.41%、0.85%、1.69%。结果表明:方法重复性良好。

2.6 稳定性试验 取裸花紫珠分散片、裸花紫珠胶囊、裸花紫珠片供试品溶液各 1 份,分别于 0、4、8、12、24 h 进行定量测定,结果 RSD 分别为 1.21%、1.06%、1.78%。表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.7 加样回收率试验 精密称取裸花紫珠分散片、裸花紫珠胶囊、裸花紫珠片样品各 9 份,分别精密加入对照品溶液 (0.105 5 mg/mL) 适量,按供试品溶液制备方法各制备 9 份供试品溶液,按上述色谱条件进行测定,结果见表 1~3。

表 1 裸花紫珠分散片木犀草素加样回收试验结果 (n=9)

取样量	已知量	加入量	测得量	回收率	平均回	RSD
/g	/mg	/mg	/mg	/%	收率/%	/%
0.125 1	0.120 1	0.105 5	0.226 0	100.38		
0.125 4	0.120 4	0.105 5	0.223 0	97.25		
0.132 4	0.127 1	0.105 5	0.230 0	97.54		
0.119 8	0.115 0	0.126 6	0.239 0	97.95		
0.116 4	0.111 7	0.126 6	0.237 0	98.97	98.67	1.47
0.120 3	0.115 5	0.126 6	0.240 0	98.34		
0.124 7	0.119 7	0.147 7	0.268 0	100.41		
0.132 4	0.127 1	0.147 7	0.270 0	96.75		
0.123 5	0.118 6	0.147 7	0.267 0	100.47		

表 2 裸花紫珠胶囊木犀草素加样回收试验结果 (n=9)

取样量	已知量	加入量	测得量	回收率	平均回	RSD
/g	/mg	/mg	/mg	/%	收率/%	/%
0.105 1	0.162 9	0.126 6	0.287 0	98.03		
0.105 4	0.163 4	0.126 6	0.287 0	97.63		
0.102 4	0.158 7	0.126 6	0.283 0	98.18		
0.109 8	0.170 2	0.168 8	0.335 0	97.63		
0.106 4	0.164 9	0.168 8	0.331 0	98.40	98.24	0.75
0.100 3	0.155 5	0.168 8	0.321 0	98.05		
0.104 7	0.162 3	0.189 9	0.352 0	99.89		
0.102 4	0.158 7	0.189 9	0.344 0	97.58		
0.103 5	0.160 4	0.189 9	0.348 0	98.79		

表 3 裸花紫珠片木犀草素加样回收试验结果 ($n=9$)

取样量 /g	已知量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回 收率/%	RSD /%
0.103 5	0.147 0	0.105 5	0.253 0	100.47		
0.105 4	0.149 7	0.105 5	0.252 0	96.97		
0.102 4	0.145 4	0.105 5	0.252 0	101.04		
0.109 8	0.155 9	0.126 6	0.283 0	100.39		
0.099 8	0.141 7	0.126 6	0.266 0	98.18	98.60	1.80
0.104 7	0.148 7	0.126 6	0.274 0	98.97		
0.100 6	0.142 9	0.147 7	0.286 0	96.89		
0.105 8	0.150 2	0.147 7	0.292 0	96.01		
0.104 6	0.148 5	0.147 7	0.294 0	98.51		

2.8 样品测定 按上述方法,分别测定各批样品中木犀草素,按上述色谱条件进样 5 μ L,以外标法计算木犀草素。结果见表 4。

表 4 样品测定结果 (分散片、胶囊、片 $n=4$)

剂型	编号	批号	平均质量分数/(mg/g)	RSD/%
分散片	1	091201	1.96	0.78
	2	091202	1.73	1.02
	3	091001	2.05	1.57
胶囊	4	20100101	3.55	1.04
	5	20090701	3.26	1.49
	6	20090101	3.11	0.58
片	7	100700	2.42	0.64
	8	100600	2.56	0.92
	9	800490	2.92	1.04

3 讨 论

3.1 在 3 种制剂色谱图中,在木犀草素峰之前均出现一含量较高的未知峰,由于目前尚未有裸花紫珠活性成分报道,所以不能明确此化合物,相关研究试验有待以后深入进行。

3.2 实验中参考文献[8-9]进行提取溶剂及方法的优化:取裸花紫珠分散片研细,取约 0.25 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,分别加甲醇、50% 甲醇和 2.5 mol/L 盐酸甲醇溶液各 20 mL,称定质量,于水浴中加热回流 30 min,放冷,用甲醇补足质量,摇匀,作为供试品溶液,按上述色谱条件进行测定,用甲醇和 50% 甲醇提取测得结果相近,分别为 1.05、1.08 mg/g,用 2.5 mol/L 盐酸甲醇溶液测得结果为 1.96 mg/g,结果表明用 2.5 mol/L 盐酸甲醇溶液进行酸水解后提取效果较

佳。

3.3 参考文献[10-13]采用甲醇-磷酸和乙腈-磷酸系统,结果表明前者峰型好,杂质峰与木犀草峰分离效果好。

3.4 由于原来的质量标准未将木犀草素作为控制指标,导致不同的剂型含量存在较大差异,提示原料质量和生产工艺都有可能影响产品的内在质量,因此本实验采用专属性强的质量标准,为保证临床用安全有效提供科学参考依据。

3.5 本实验采用同一方法测定裸花紫珠不同剂型中同一有效成分,将会大大减少分析时间,提高效率,节约成本。

参考文献:

- [1] 王祝年,韩 壮,崔海滨,等.裸花紫珠的化学成分[J].热带亚热带植物学报,2007,15(4):359-362.
- [2] 张 毅,王旭光.木犀草素的体外抗炎机制研究[J].广州中医药大学学报,2007,24(3):231-234.
- [3] 肖大凯,覃燕梅,莫丽儿,等.木犀草素对卵巢癌细胞株转移能力的影响[J].中国病理生理杂志,2006,22(6):1199-1202.
- [4] 杜贵涛,彭蕴茹,刘国卿.木犀草素对 H_2O_2 诱导鼠心肌细胞损伤的保护作用[J].江苏中医药,2006,27(11):74-75.
- [5] YBZ08872006.国家食品药品监督管理局标准(试行)[S].
- [6] YBZ03722005.国家食品药品监督管理局标准(试行)[S].
- [7] 国家药品监督管理局国家中成药标准汇编.中成药地方标准上升国家标准部分外科妇科分册[S].2002:336.
- [8] 陈黄保. HPLC 法测定夜香牛中木犀草素的含量[J].中国药师,2009,12(9):1262-1263.
- [9] 黄志芳,刘云华,刘玉红,等. RP-HPLC 测定独一味胶囊中木犀草素的含量[J].中成药,2005,27(10):附 1-附 2.
- [10] 李伟光,李长新. HPLC 法测定筋骨草胶囊中木犀草素含量[J].中国医药指南,2009,7(13):39-40.
- [11] 陈富超,李 鹏,方宝霞,等. HPLC 法测定苦碟子注射液中木犀草素的含量[J].中国药师,2010,13(2):220-222.
- [12] 黄权芳,伍小燕,黄 敏,等. HPLC 法测定壮药清热颗粒中木犀草素的含量[J].中国新药与临床药理,2010,21(3):285-287.
- [13] 胡 蓉,姚 闽,李玉云,等. HPLC 法测定裸花紫珠药材中木犀草素的含量[J].中国新药与临床药理,2009,20(3):271-272.