

HPLC 测定清肝化淤合剂中的槲皮素

徐月萍 孙梁燕 许永军

(浙江省慈溪市人民医院药剂科 浙江 慈溪 315300)

摘要: 目的 采用 HPLC 测定清肝化淤合剂中槲皮素的含量。方法 采用 Hypersil ODS₂ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.4% 磷酸水溶液(51:49), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 360 nm, 柱温 25 °C。结果 槲皮素 2.9~23.22 μg·mL⁻¹ 与峰面积呈良好的线性关系($r=0.9999$), 平均加样回收率为 99.12% $RSD=1.81%$ 。结论 所建方法简便、快捷、准确度高, 可用于清肝化淤合剂中槲皮素的测定。

关键词: 清肝化淤合剂; 槲皮素; 高效液相色谱法

中图分类号: R917

文献标志码: B

文章编号: 1006-0103(2010)04-0497-02

清肝化淤合剂是由垂盆草、山楂、绞股蓝等中药组成的复方制剂, 具清肝化淤、理气化痰之功效, 用于治疗痰湿内阻、气滞血淤所致的脂肪肝。合剂中的药材中含有大量与疗效有关的黄酮类成分^[1-2], 其中相当部分为槲皮素。为更好地控制产品的质量, 采用 HPLC 法测定了处方中的槲皮素。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

HP-1100 型高效液相色谱仪(美国惠普)。槲皮素对照品(中国药品生物制品检定所, 批号: 100081-200406); 清肝化淤合剂(自制); 甲醇为色谱纯; 水为超纯水; 其余试剂为分析纯。

1.2 方法与结果

1.2.1 色谱条件 采用 Hypersil ODS₂ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.4% 磷酸水溶液(51:49), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 360 nm, 柱温室温。

1.2.2 溶液的制备 精密称取 5.8 mg 槲皮素对照品, 置 100 mL 量瓶中, 以甲醇溶解并定容, 即得对照品溶液。精密量取 10 mL 样品于具塞锥形瓶中, 水浴中蒸至近干, 用甲醇溶解残渣, 定量转至 25 mL 量瓶中, 用甲醇洗涤锥形瓶, 洗液并入量瓶中, 用甲醇定容, 过滤, 精密量取 10 mL 续滤液, 置 100 mL 锥形瓶中, 加 10 mL 甲醇、5 mL 25% 盐酸溶液, 摇匀, 置水浴中加热回流 30 min, 迅速冷却至室温, 转移到 50 mL 量瓶中, 用甲醇定容。进样前过 0.45 μm 微孔滤膜, 得供试品溶液。

1.2.3 专属性试验 取“1.2.2”项各溶液, 在“1.2.1”项条件下测定, 进样 20 μL。色谱图见图 1。可

见清肝化淤合剂中其他成分不干扰槲皮素的测定。

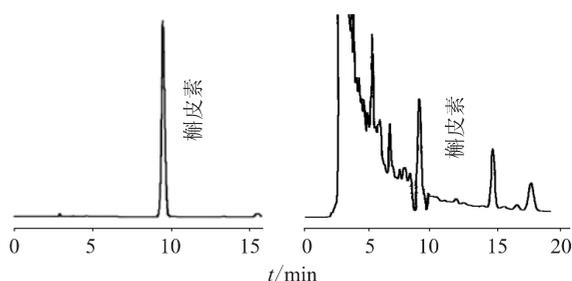


图1 对照品(A)和供试品(B)溶液的 HPLC 图谱

1.2.4 稳定性试验 分别于 0、2、4、6、8、10、12、24 h 时吸取 20 μL 供试品溶液进样, 其质量浓度的 $RSD=1.99%$, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

1.2.5 线性范围 精密吸取 0.5、0.75、1、2、4 mL 0.058 mg·L⁻¹ 槲皮素对照品溶液于 10 mL 量瓶中, 各加 5 mL 水, 以甲醇定容, 配成系列溶液。按“1.2.1”项色谱条件各进样 3 次, 记录峰面积。以峰面积为纵坐标、浓度为横坐标绘制标准曲线, 回归方程为: $Y=84.712 X-155.601$ ($r=0.9999$)。槲皮素 2.9~23.2 μg·mL⁻¹ 与峰面积的线性关系良好。

1.2.5 精密度试验 准确配制 4.64、5.80、6.96 μg·mL⁻¹ 的槲皮素对照品溶液, 按“1.2.1”项色谱条件分别在 1 d 内重复进样 5 次, 测得日内 RSD 分别为 0.65%、0.57%、0.78% ($n=5$); 同法配制相同浓度的对照品溶液, 于 5 d 内重复进样, 测得日间 RSD 分别为 1.22%、1.43%、1.56% ($n=5$)。

1.2.6 重复性试验 平行操作制备供试品溶液 6 份, 各吸 20 μL, 进样, 记录峰面积, 其质量浓度的 $RSD=0.97%$ 。

1.2.7 加样回收率试验 精密量取 10 mL 含槲皮

素 $149.94 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的样品 6 份,分别精密加入 2.5、5.0、6.0 mL 对照品溶液($300 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 各 2 份,按“1.2.2”法制备,按“1.2.1”项色谱条件测定,槲皮素的加样回收率为 $99.02\% \pm 1.92\%$ 。

1.2.8 样品的测定 测定 3 批样品,每批样品平行测 3 次。计算的每批样品中槲皮素的平均含量及 RSD 分别为 $152.77 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($RSD = 0.73\%$)、 $149.94 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($RSD = 1.13\%$)、 $151.82 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($RSD = 0.88\%$)。

2 讨论

曾以甲醇-水、乙腈-水、乙腈-甲醇-水、乙

腈-0.05% 甲酸水溶液、甲醇-0.4% 磷酸水溶液等不同浓度和比例的流动相系统试验,最终确定甲醇-0.4% 磷酸水溶液(51:49) 为流动相。取槲皮素对照品溶液,于 200~500 nm 扫描,在 360 nm 处有最大吸收,参照文献^[1-2],确定 360 nm 为测定波长。

参考文献:

- [1] 张永超,哈云利,唐大力,等. 高效液相色谱法测定山楂中芦丁和槲皮素的含量[J]. 化学工程师, 2006, 126(3): 28.
- [2] 卢金清,喻樊,陈黎,等. RP-HPLC 测定绞股蓝中芦丁和槲皮素的含量[J]. 中成药, 2007, 29(8): 1193-1195.

收稿日期: 2010-02-01

Meta 分析他克莫司与环孢素 A 治疗肺移植患者术后的排斥反应

苏 兰 吴 斌 朱小牧 饶 凡*

(四川大学华西医院药剂科,四川 成都 610041)

摘要: 目的 分析他克莫司(FK)与环孢素 A(CSA) 在治疗肺移植患者术后排斥反应的疗效和安全性。方法 计算机检索 Medline、Embase、Sci、Cochrane 图书馆及 CBM 数据库,纳入 FK 对比 CSA 治疗肺移植患者术后排斥反应的随机对照试验(RCT);对纳入文献进行方法学质量评价和 Meta 分析。结果 共纳入 4 个 RCT(331 例受试者) 分析显示:两组急性排斥反应的发生率差异有统计学意义,FK 组新发糖尿病患者多于 CSA 组,从 CSA 组转用其方式治疗的患者多于 FK 组;1 年内总存活率及梗阻性支气管炎的发生率差异无统计学意义;肾功能两组相似。结论 基于当前证据,肺移植后的抗排斥反应治疗,FK 与 CSA 比较能减少急性排斥反应的发生,但会导致更多新发糖尿病患者。

关键词: 他克莫司;环孢素 A;肺移植;Meta 分析;排斥反应

中图分类号:R97

文献标志码: B

文章编号: 1006-0103(2010)04-0498-04

肺移植是肺病晚期患者的救治方案。与其他器官移植相比,肺移植后具有更高的急性排斥反应(AR) 发生率^[1]。55% 肺移植患者在术后 1 年都要进行对抗 AR 治疗^[2]。AR 是诱发梗阻性支气管炎(BO) 的主要风险因素^[3]。神经钙蛋白抑制剂、细胞周期抑制剂和皮质激素在内的三联用药是移植后免疫抑制的主要疗法。传统的环孢素 A(CSA) 联合硫唑嘌呤(AZA) 及激素治疗后仍有较高的 AR 发生率^[4]。他克莫司(FK) 替代 CSA 用药在肝、肾、心脏移植中能减低 AR 的发生^[5-6],但在肺移植中的效果有待证实,现就 FK 替代 CSA 对肺移植患者术后的免疫抑制疗效与安全性进行评价。

1 资料、方法与结果

1.1 纳入与排除标准

纳入随机对照试验(RCT) 的不限制盲法实施、

不限制语种和发表地、初次肺移植患者(单侧肺或双侧肺移植患者)。排除再次肺移植患者、肺移植术后肾功能衰竭患者、并发其他恶性肿瘤患者、对研究药物不耐受或过敏患者。肺移植术后,单用 FK 对比单用 CSA 干预的、FK 联用药物对比 CSA 联用相同药物干预的患者。主要结果为急性排斥反应发生率(急性排斥反应是由胸部 X 射线胸透和外周血细胞免疫监测到的移植术后 6 个月内发生的排斥反应)、急性排斥反应治愈率、梗阻性支气管炎;次要结果为总存活率(随访期结束时,受试者中总存活人数占总受试者人数的百分比)、感染(移植后随访期内监测到的任何细菌、真菌、病毒等病原微生物所致感染)、免疫抑制治疗交叉(治疗过程中从所分配组撤出,转用其他治疗方式的受试者) 及药物不良反应。

作者简介: 苏兰,主管药师,从事医院药房工作。

* 通信作者,Email: jinhongsl@tom.com