

RP - HPLC 测定十八味降香丸中木香烯内酯的含量

星玉秀^{1,2}, 许传梅^{1,2}, 皮立¹, 董琦¹, 肖远灿^{1,2}, 胡凤祖^{1*}

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要 目的:建立藏药十八味降香丸中木香烯内酯的含量测定方法。**方法:**采用反相高效液相色谱法测定十八味降香丸中木香烯内酯的含量。色谱柱为 Kromasil C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), 流动相为甲醇 - 水 (65:35), 流速 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长为 225 nm。**结果:**木香烯内酯在 8 ~ 40 μg · mL⁻¹ 范围内呈良好的线性关系, 十八味降香丸中木香烯内酯的回收率为 99.0%。**结论:**本法简单、快速、准确, 可用于藏药十八味降香丸中木香烯内酯的含量测定。

关键词:藏药十八味降香丸; 木香烯内酯; 木香; 反相高效液相色谱法; 含量测定

中图分类号: R917 **文献标识码:** A **文章编号:** 0254 - 1793 (2007) 12 - 1962 - 03

RP - HPLC determination of costunolide in Shibaweijiangxiang pills

XING Yu - xiu^{1,2}, XU Chuan - mei^{1,2}, PI Li¹, DONG Qi¹, XIAO Yuan - can^{1,2}, HU Feng - zu^{1*}

(1. Northwest Biological Research Institute of Plateau of Chinese Academy of Sciences, Xi'ning 810008, China;

2. Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract Objective: To set up a feasible method of quantitative study about the contents of costunolide in Radix Aucklandiae and Shibaweijiangxiang pills by RP - HPLC. **Methods:** The conditions were Kromasil column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm), methanol - water (65:35) as the mobile phase, flow rate was 1.0 mL · min⁻¹, wavelength was set at 225 nm. **Results:** The linear relationship for determination of costunolide was good in the range of 8 - 40 μg · mL⁻¹, and the recovery rate of costunolide was 99.0%. **Conclusion:** The method is reliable for the study about the contents of costunolide in Radix Aucklandiae and Shibaweijiangxiang pills. The method is rapid, simple and accurate.

Key words: Shibaweijiangxiang pills; costunolide; Radix Aucklandiae; RP - HPLC; content determination

藏药十八味降香丸主要由木香、甘青青兰、红花、紫草茸、丁香、藏茜草、肉豆蔻、降香、藏紫草、兔耳草、草果、矮紫堇、诃子、巴夏嘎、莲座、虎耳草、牛黄、豆蔻制成, 其主要功能为降血压、理气, 对于多血症及高血压引起的肝区疼痛、口唇指甲发绀、口干音哑、头晕眼花等病症的治疗也有较好的疗效^[1]。木香为菊科云木香属植物木香 (*Aucklandia lappa* Decne) 的干燥根, 主含挥发油, 木香烯内酯 (costunolide, CTNL) 是挥发油的主要成分^[2], 具有松弛平滑肌和解痉作用, 还能抑制由 KCl 诱导的主动脉收缩等^[3], 也是方中君药木香的主要活性成分。本文用高效液相色谱法对十八味降香丸中的木香烯内酯进行了定量分析研究, 为该产品的质量控制在提供了客观的定量评价方法。

1 仪器与试剂

Waters 515 型高效液相色谱仪, Waters 2996 二极管阵列紫外检测器, Empower 色谱工作站。KQ - 100E 型超声波清洗器 (昆山超声仪器科技有限公司), MOLELEMENT 元素型超纯水机 (上海摩勒生物科技有限公司)。十万分之一电子天平 (METTLER TOLEDO, AG135)。

甲醇为色谱纯, 氯仿为分析纯; 木香烯内酯对照品购自中国药品生物制品检定所, 十八味降香丸由青海帝玛尔藏药药业有限公司提供, 规格为每丸 0.6 g。

2 溶液制备

2.1 对照品溶液 精密称定木香烯内酯对照品适量, 加甲醇制成 1 mL 含 0.1 mg 的储备液。精密吸

* 通讯作者 Tel: (0971) 6132750; E - mail: hufz@nwipb.ac.cn

取 2.0 mL 置 10 mL 量瓶中,用甲醇稀释到刻度,制成 1 mL 含木香烃内酯 20 μg 的溶液。

2.2 供试品溶液 取本品研细,精密称定 5.0 g,置烧瓶中,加入氯仿 50 mL,加热回流 40 min,过滤,滤液蒸干,残留物加甲醇溶解,定容至 50 mL,摇匀,用 0.45 μm 滤膜过滤即可。

2.3 阴性样品溶液 按处方比例制成不含木香的十八味降香丸阴性样品,按供试品溶液的制备方法,制备阴性样品溶液。

3 色谱条件

色谱柱: Kromasil C_{18} (4.6 mm \times 150 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (体积比 65:35); 检测波长 225 nm; 柱温: 25 $^{\circ}\text{C}$; 流速: 1.0 mL \cdot min $^{-1}$ 。在此条件下,理论塔板数为 4231,木香烃内酯与其他组分均能达到基线分离,十八味降香丸中其他成分对木香烃内酯含量测定无干扰。结果见图 1。

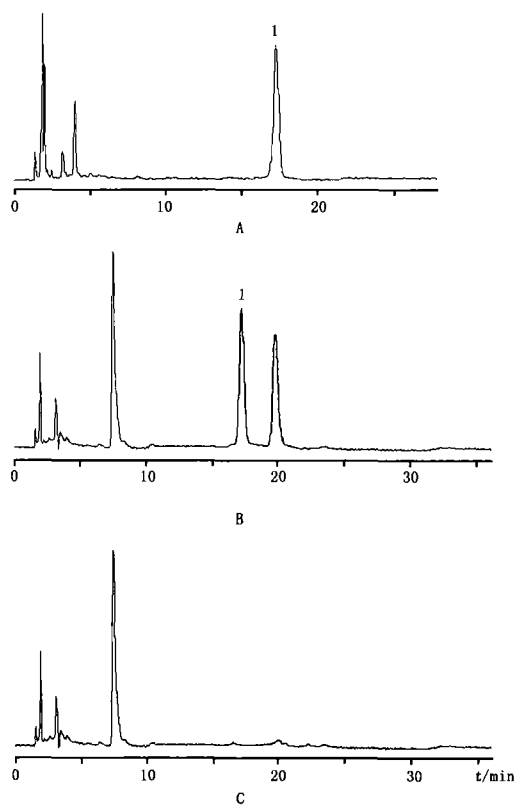


图 1 对照品(A)、样品(B)及阴性样品(C)色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of reference substance(A), sample(B) and negative sample without Radix Aucklandiae(C)

1. 木香烃内酯(costunolide)

4 方法学考察

4.1 线性关系考察 精密吸取 0.10 mg \cdot mL $^{-1}$ 的木香烃内酯对照品储备液,加甲醇配成 8, 16, 24, 32, 40 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 系列浓度的对照品溶液,各进样 10

μL ,按上述色谱条件测定峰面积,以木香烃内酯峰面积 A 对浓度 C 进行线性回归,得标准曲线回归方程为:

$$A = 7.5 \times 10^4 C - 3.45 \times 10^4 \quad r = 0.9997$$

结果表明木香烃内酯浓度在 8 ~ 40 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内呈良好的线性关系。

4.2 精密度考察 精密吸取 0.020 mg \cdot mL $^{-1}$ 对照品溶液 10 μL 重复进样 6 次,测定木香烃内酯峰面积,计算 RSD 值。结果木香烃内酯峰面积平均积分为 1048220, RSD 为 2.3%。

4.3 稳定性考察 精密吸取供试品溶液 10 μL ,依照供试品测定方法分别于 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24 h 进样,测定供试品中木香烃内酯的含量,平均值 ($n = 7$) 为 0.190 mg \cdot 丸 $^{-1}$,其 RSD 为 1.3%。结果表明,供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

4.4 重复性考察 精密称取同一批供试品溶液 (批号 031201) 6 份,按“供试品溶液”制备方法制得待测溶液,依照供试品测定方法进样,测定供试品中木香烃内酯的含量,平均值 ($n = 6$) 为 0.182 mg \cdot 丸 $^{-1}$,其 RSD 为 1.2%,表明重复性良好。

4.5 回收率试验 精密称取已知木香烃内酯含量 (0.321 mg) 的样品 1.0 g,精密加入 0.20 mg \cdot mL $^{-1}$ 对照品溶液 1 mL,按“供试品溶液”制备方法制备所需溶液,进样 10 μL ,进行测定,平均回收率 ($n = 5$) 为 99.0%, RSD 为 0.99%。

5 含量测定

分别吸取“溶液制备”项下的对照品溶液和供试品溶液各 10 μL ,注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定批号为 021201, 021202, 021203, 021204, 021205, 021206, 021207, 021208, 021209, 021210 的 10 批样品中的木香烃内酯含量 ($n = 3$) 为 0.182, 0.185, 0.182, 0.186, 0.187, 0.188, 0.183, 0.182, 0.181, 0.180 mg \cdot 丸 $^{-1}$ 。

6 讨论

6.1 色谱条件的选择 本试验曾在文献[2]色谱条件的基础上,比较了甲醇-水系统和乙腈-水系统,两者的分离度均较好,考虑乙腈毒性大、价格较高,所以采用了甲醇-水系统。我们还对 Hypersil C_{18} 柱、Kromasil C_{18} 柱、Symmetry C_{18} 柱进行了比较,以 Kromasil C_{18} 柱分离度好,柱效高。

6.2 提取条件的选择 对十八味降香丸设计正交实验考察提取条件,考察项目包括提取溶剂(水,甲醇,氯仿)、提取方法(回流时间,索氏提取,超声提取),结果表明以氯仿经回流提取效果最好。又考

察了氯仿用量及提取时间对提取效率的影响,确定最佳提取条件为:50 mL 氯仿回流提取 40 min。

6.3 小结 2005 年版中国药典中记载了木香药材的含量测定项,但对其制剂尚未见报道。本试验采用高效液相色谱法,选择木香烯内酯为测定指标,用甲醇-水(65:35)作为流动相,使木香烯内酯和本品中其他杂质峰得到了很好的分离,试验结果表明该测定方法专属性强,结果稳定,重现性好,可以用于本品的质量控制。

参考文献

- 1 ChP (中国药典). 2005. Vol I (一部):41
- 2 LI Ze-you (李泽友), PAN Yang (潘扬), DING Gang (丁刚). Qualitative and quantitative studies of costunolide and dehydrocostus lactone in Radix Aucklandiae (木香药材中木香烯内酯和去氢木香内酯的定性和定量研究). *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2004, 15 (11):745
- 3 WANG Yong-bing (王永兵), WANG Qiang (王强), MAO Fu-lin (毛福林). Pharmacological study on Radix Aucklandiae (木香的药效学研究). *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2001, 32 (2):146

(本文于 2007 年 6 月 13 日收到)

欢迎订阅 2008 年《中国天然药物》杂志

《中国天然药物》是由中国药科大学与中国药学会共同主办的国家级药学学术期刊,2003 年 5 月创刊。本刊以报道来自天然产物的活性化合物的发现与改造,以及其药效与药理作用机制为重点,是具有我国独特优势的中药、草药、海洋药物、生化药物、微生物药物、民族药物、民间药物进行国内外学术交流的重要窗口。本刊主要报道天然药物创新性研究成果,辟有思路与方法、综述、论文、简报、技术交流、快报、药事法规等栏目;登载中药学、天然药物化学、药剂学、药物分析学、药理学、毒理学、生物化学、微生物学、分子生物学及其相关学科的研究原著,刊物体现了前沿性、创新性、科学性、可读性的特点。由本刊重点打造的“思路与方法”栏目由于其权威性、前沿性、启发性而深受药学工作者喜爱。本刊是我国药学领域高水平学术期刊,在高等院校、科研机构、制药企业、药检部门、医疗单位拥有众多读者群。

《中国天然药物》以学术质量为生命线,国内外学术影响不断扩大。据最新《2007 版中国期刊引证报告》(中国科技信息所“万方数据库”)统计,本刊 2006 年影响因子高达 0.957;与 2004 年版《中文核心期刊要目总览》中收录的 15 个药学类核心期刊相比,排名第 4 位,基金论文比为 60%,排名第 2 位。2007 年获全国中医药优秀期刊奖。目前本刊已被国际 15 个权威数据库收录为来源期刊,9 大网络数据库为:BIOSIS Previews, BIOSIS Toxicology, CAB ABSTRACTS, EMBASE, EMBASE Alert, Global Health, IPA, IPA Toxicology, SCOPUS; 6 大印刷版文摘检索系统为:BA《生物学文摘》、CA《美国化学文摘》、Excerpta Medica《荷兰医学文摘》、IPA《国际药学文摘》、AJ《俄罗斯文摘》、Index Copernicus《哥白尼索引》;同时被国内各权威统计、检索数据库收录。自 2008 年起,世界最大出版集团爱思唯尔(Elsevier)公司将基于全球 100 万 Science Director 数据库用户,与印刷版同步,在国际出版发行《中国天然药物》全英文网络版。

《中国天然药物》为双月刊, A4 开本, 80 页, 铜版纸精美印刷, 逢单月 20 日出版, 国内外公开发售。国内定价每期 15 元, 全年 90 元。国际连续出版物号 ISSN:1672-3651; 国内统一刊号:CN 32-1708/R。

地址:南京市童家巷 24 号《中国天然药物》编辑部 邮编:210009

电话:025-83271565/8; 传真:025-83271229

电子信箱:zgtryw@sohu.com /zgtryw@cpu.edu.cn; http://zgtr.chinajournal.net.cn