

解度,以磷脂与油酸乙酯组成的复合油对药物的溶解度最大,可满足临床用药需求。笔者认为,磷脂增加药物在油相中的溶解度有两个原因,一是磷脂与灯盏花素形成药物磷脂复合物^[5],药物分子结构中的酚羟基与羧酸基团上的氧具有负电性,可与磷脂结构中具有正电性的季胺氮相互吸引,从而掩盖药物分子中的极性部分,使药物分子极性降低,亲脂性增加;二是磷脂溶解于油相中,增加了油相极性,对灯盏花素溶解力增强。

参考文献

[1] 胡发明. 口服抗血小板药物与抗凝剂防治缺血性心脏病[J]. 国外医药:合成药生化药制剂分册,2001,22(2):89-90.

[2] KHOO S M, ANDREW J H, CHRISTOPHER H P, et al. Formulation design and bioavailability assessment of lipidic self-emulsifying formulations of halofantrine [J]. Int J Pharm, 1998, 167(1-2):155-164.

[3] 薛萍, 强双畅, 刘晓瑜. 葡聚糖凝胶柱层析法分离测定注射用阿洛西林钠中的聚合物[J]. 海峡药学, 2010, 22(3): 39-41.

[4] 晏亦林, 周莉玲, 林绍瑜, 等. 磷酸川芎嗪纳米脂质体包封率的测定[J]. 医药导报, 2008, 27(7):824-825.

[5] 刘宏, 唐晓莽, 王影, 等. 灯盏花素磷脂复合物的表征[J]. 医药导报, 2010, 29(11):1395-1397.

DOI 10.3870/yydb.2012.05.038

非水毛细管电泳法测定 甲磺酸酚妥拉明注射液中主药含量

张进锋¹, 张敬阳¹, 孙文赋², 陈琴华¹

(1. 湖北医药学院附属东风医院, 湖北十堰 442008; 2. 湖北省十堰市红十字会医院检验科, 442008)

摘要 目的 建立快速测定甲磺酸酚妥拉明含量的非水毛细管电泳法(NACE)。方法 熔融石英毛细管(50 μm×50 cm), 缓冲液为60 mmol·L⁻¹乙酸-1.5%醋酸-20%乙腈(78.5:1.5:20.0)的甲醇液, 检测波长220 nm, 分离电压25 kV, 柱温25℃, 用孔径0.45 μm微孔滤膜过滤后进样, 压力进样; 50 kPa×3 s。结果 甲磺酸酚妥拉明法最低检测浓度为0.1 μg·mL⁻¹, 线性范围1~50 μg·mL⁻¹, r=0.999 7, 线性关系良好。平均加样回收率98.03%, RSD为1.54%。结论 NACE法可作为甲磺酸酚妥拉明的快速测定方法。

关键词 甲磺酸酚妥拉明; 非水毛细管电泳; 含量测定

中图分类号 R972; R927.1

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2012)05-0658-03

甲磺酸酚妥拉明(phentolamine mesilate)为α肾上腺素受体阻滞药, 临床用于治疗血管痉挛性疾病, 现行研究多采用高效液相色谱法测定其含量和有关物质^[1,2]。非水毛细管电泳(non-aqueous capillary electrophoresis, NACE)与以水相介质为主的经典毛细管电泳技术相比, 具有分析对象范围广、分离效率高、分离选择性强和吸附少等优点, 且NACE与质谱连接具有非常好的优势, 近年来已引起分析工作者的广泛重视^[3,4]。考虑到毛细管电泳的重复性问题, 笔者在本实验中采用NACE, 选用盐酸羟甲唑啉作为内标, 测定甲磺酸酚妥拉明含量, 具有高效、快速、分离效果好

和结果准确等特点, 可以用来快速测定其含量。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 HP^{3D}CE G1600AX 高效毛细管电泳仪(美国Agilent公司), pH-S-2型酸度计(上海仪器厂), 超声波振荡仪(Auto Science公司), BP221S电子分析天平(美国Sartorius公司), Maxima超纯水机(英国基因公司)。

1.2 试剂 甲醇(美国Fisher公司, 色谱纯, 批号: 1012525), 乙酸铵(西安化学试剂厂, 分析纯, 批号: 10001218), 冰醋酸(西安化学试剂厂, 分析纯, 批号: 100123), 甲磺酸酚妥拉明(Sigma公司, 批号: P-7547), 盐酸羟甲唑啉(Sigma公司, 批号: O-2378), 甲磺酸酚妥拉明注射液(上海旭东海普药业有限公司, 规格: 1 mL: 10 mg, 批号: 090201, 100101, 100305)。

2 方法与结果

2.1 电泳条件 未涂层熔融石英毛细管柱(50 μm×50 cm), 有效长度41.5 cm; 检测波长220 nm; 电压25 kV; 温度25℃; 进样量50 kPa×3 s; 缓冲液为60 mmol·L⁻¹乙

收稿日期 2011-07-09 修回日期 2011-11-20

作者简介 张进锋(1977-), 男, 湖北天门人, 主治医师, 学士, 研究方向: 口腔医学。电话: 0719-8272348, E-mail: cqh77@126.com。

通讯作者 陈琴华(1976-), 男, 湖北荆门人, 主管药师, 硕士, 研究方向: 医院药学。电话: 0719-8272348, E-mail: cqh77@163.com。

酸铵-1.5%醋酸-20%乙腈(78.5:1.5:20.0)的甲醇液。缓冲液使用前均用孔径 $0.45\ \mu\text{m}$ 滤膜过滤,并用超声波脱气,两次分析之间依次用 $0.1\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钠和超纯水冲洗4 min,用缓冲液冲洗5 min。

2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品溶液 精密称取甲磺酸酚妥拉明对照品约10 mg,置10 mL量瓶,用甲醇溶解并定容,作为甲磺酸酚妥拉明对照品贮备液。精密吸取适量,用甲醇稀释得2,10,20,40,60,80和 $100\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 标准溶液。

2.2.2 内标溶液 精密称取盐酸羟甲唑啉对照品约10 mg,置10 mL量瓶,用甲醇溶解并定容,作为内标贮备液。精密吸取适量,用甲醇稀释得 $40\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内标工作液。

2.2.3 供试品溶液 精密称取甲磺酸酚妥拉明注射液约2.0 mL,置100 mL量瓶,甲醇稀释至刻度,混匀,精密吸取1.0 mL,置10 mL量瓶,稀释至刻度,混匀,进样前用孔径 $0.45\ \mu\text{m}$ 超滤膜过滤并脱气。

2.3 线性关系考察和最低检测限确定 取“2.2”项下所配的甲磺酸酚妥拉明系列溶液和内标溶液各0.5 mL,混匀,相当于甲磺酸酚妥拉明的浓度分别为1,5,10,20,30,40和 $50\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 以及内标的浓度为 $20\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,孔径 $0.45\ \mu\text{m}$ 滤膜过滤,按“2.1”项下电泳条件进样,记录色谱图和峰面积。以浓度为横坐标(X),甲磺酸酚妥拉明和内标的峰面积之比为纵坐标(Y)进行回归,得线性回归方程: $Y = 4.021X - 0.241$, $r = 0.9997$ 。结果表明,盐酸酚妥拉明在 $1\sim 50\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度范围线性关系良好。在信噪比(S/N)为3时,测得最低检出限为 $0.1\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,对照品和内标电泳图见图1。

2.4 精密度实验 取 $40\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 标准溶液和内标溶液,等体积混合,连续进样6次,计算得甲磺酸酚妥拉明迁移时间的RSD为0.95%,甲磺酸酚妥拉明与内标峰面积之比RSD为1.02%。

2.5 加样回收率实验 取同一 $20.32\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 供试品6份,各250 μL ,分别加入 $20\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 甲磺酸酚妥拉明对照品250 μL 和内标溶液500 μL ,混匀,并按“2.1”项色谱条件进样,测定,结果见表1。平均加样回收率98.03%,RSD=1.54%。

2.6 样品测定 精密量取甲磺酸酚妥拉明注射液约2.0 mL,共3份,按“2.2”项下制备,按“2.1”项电泳条件进样,记录色谱图,外标法计算甲磺酸酚妥拉明含量。结果分别为10.16,10.07和 $10.05\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

3 讨论

3.1 内标的选择 笔者在本实验成功建立了测定甲

磺酸酚妥拉明注射液中主药含量的NACE法,选用盐酸羟甲唑啉作为内标,保证了方法的准确度和精密度,克服了毛细管电泳精密度和重复性不好的缺点。

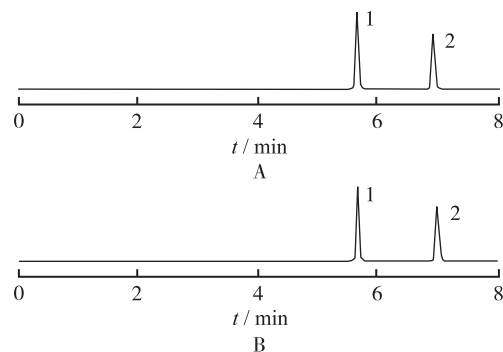


图1 甲磺酸酚妥拉明和盐酸羟甲唑啉标准(A)、样品(B)电泳图

1. 甲磺酸酚妥拉明;2. 盐酸羟甲唑啉

表1 甲磺酸酚妥拉明加样回收率实验结果

样品量	加入量	测得量	回收率/
	μg		%
5.08	5.00	10.06	99.60
5.08	5.00	10.01	98.60
5.08	5.00	9.89	96.20
5.08	5.00	9.89	96.20
5.08	5.00	10.05	99.40
5.08	5.00	9.99	98.20

3.2 乙酸铵和乙酸浓度对NACE的影响 毛细管电泳虽然具有高分辨率和分离时间快等优点,但其影响因素较多,因此笔者对运行缓冲液的构成和相对用量,以及毛细管电泳的电压和温度进行了考察,相对于一些有机溶剂如甲醇、乙腈、甲酰胺等,选用甲醇、乙腈和醋酸铵为毛细管的运行缓冲液,实验中分别考察了 $50\sim 90\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 醋酸铵, $0\sim 2.0\%$ 醋酸, $0\sim 30\%$ 乙腈在20 kV电压和 $25\ ^\circ\text{C}$ 的效果。结果发现,甲磺酸酚妥拉明和内标迁移时间和分离度随醋酸铵浓度的增加而明显增加,当醋酸铵 $<25\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,甲磺酸酚妥拉明与杂质不能基线分离。当醋酸铵为 $60\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,峰面积和分离度都达到最佳;相反,它们的迁移时间随醋酸浓度升高而缩短,当醋酸为1.5%时,甲磺酸酚妥拉明和内标的检测灵敏度最高。而随乙腈浓度的增大,迁移时间显著降低,峰面积逐渐增大,当乙腈浓度 $>10\%$ 时,分析物的峰面积呈下降趋势,综合考虑分析物的峰面积和迁移时间,本实验所选择的最佳乙腈浓度为20%。综上所述,选择了缓冲液

为60 mmol · L⁻¹ 乙酸铵-1.5% 醋酸-20% 乙腈 (78.5 : 1.5 : 20.0) 的甲醇液为运行缓冲液。

3.3 运行电压和温度对 NACE 的影响 对运行电压 (20, 25, 30 kV) 和温度 (20, 25, 30 °C) 在 60 mmol · L⁻¹ 乙酸铵-1.5% 醋酸-20% 乙腈的甲醇液中进行毛细管电泳分析。发现随着电压的增加迁移时间缩短, 电流明显增加, 而分离无明显改善, 考虑温度主要影响缓冲液的黏度和电渗流, 从而影响各组分分离, 因此选择最佳运行电压为 25 kV, 分析温度为 25 °C。

笔者在本实验中充分发挥 NACE 分离效率高、分析速度快等特点测定甲磺酸酚妥拉明含量, 该法较 HPLC、UV 和荧光更快, 更方便, 通过对其线性、精密

度、重复性以及回收率的考察, 为控制甲磺酸酚妥拉明的含量提供一种新的快速、简便方法, 而且为毛细管电泳与质谱的联用提供了参考。

参考文献

[1] 高锦, 付聪, 嵇扬, 等. 甲磺酸酚妥拉明注射液的细菌内毒素检查方法[J]. 医药导报, 2009, 28(1): 103-105.

[2] 李国信, 夏素霞, 王月敏, 等. 甲磺酸酚妥拉明口腔崩解片在健康人体的药代动力学和生物等效性[J]. 中国临床药理学杂志, 2008, 24(1): 51-54.

[3] 陈琴华, 李鹏, 李志浩. 非水毛细管电泳分离技术在中药分析中的应用[J]. 医药导报, 2010, 29(1): 61-64.

[4] 肖树雄, 李倚岳, 陈加雄. 几种现代技术在中药检验中的应用概况[J]. 中药材, 2002, 25(11): 838-841.

DOI 10.3870/yydb.2012.05.039

无花果叶炮制前后补骨脂素含量比较

刘毅, 陈莉

(贵阳中医学院药学院, 550006)

摘要 目的 研究无花果叶炮制后补骨脂素含量变化。方法 以无花果叶中活性成分补骨脂素为指标, 采用高效液相色谱法测定含量, 色谱柱: Diamonsil C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 检测波长: 246 nm, 柱温: 25 °C, 室温: 25 °C, 流动相: 甲醇: 水 (50 : 50), 流速: 1.0 mL · min⁻¹。结果 无花果叶补骨脂素含量为 353.2 μg · g⁻¹, 制无花果叶补骨脂素含量 97.71 μg · g⁻¹。结论 无花果叶生品中补骨脂素含量明显高于炮制品。

关键词 无花果叶; 补骨脂素; 炮制; 色谱法; 高效液相; 含量测定

中图分类号 R286; R927.1 文献标识码 A 文章编号 1004-0781(2012)05-0660-03

无花果叶为桑科榕属植物无花果 (*Ficus carica* L.) 的干燥叶片^[1]。近年来, 国内对无花果叶进行了化学成分、药理作用及临床应用等研究, 证实其主要含佛手柑内酯 (香柠檬内酯)、补骨脂素、挥发油、微量元素等成分^[2], 具有抗肿瘤、抗菌、降血糖和血脂等药理作用^[3]。临床将无花果叶经红糖炮制后制成口服液, 用于治疗小儿腹泻, 疗效较好^[4]。民间认为, 无花果叶经红糖炮制后可减轻毒性, 增强解毒消肿和行气止痛效果, 所以应用时需用红糖炮制后再投料, 但文献资料未见报道炮制前后其活性成分补骨脂素的含量变化。笔者按照民间传统方法, 对无花果叶进行炮制^[5], 采用高效液相色谱法, 对比无花果叶炮制前补骨脂素含量, 为无花果叶的开发应用奠定基础。

1 仪器与试药

1.1 仪器 美国 Waters 高效液相色谱仪 (Waters

2487 型检测器, 515pump 型输液泵, 7725i 型进样阀), JA2003 型电子天平 (上海良平仪器仪表有限公司), SK8210HP 超声波清洗器 (上海科导超声仪器有限公司), Heidoph-4000 旋转蒸发仪, 电热恒温干燥箱 (GZX-DH. 300-BS-II) 等。

1.2 试药 无花果叶 [采购, 经贵阳中医学院周汉华教授鉴定为桑科榕属植物无花果 (*Ficus carica* L.) 的干燥叶片, 制无花果叶由贵阳中医学院中药药剂实验室提供], 补骨脂素对照品 (中国食品药品检定研究院, 批号: 20090922, 供含量测定用), 甲醇 (天津市科密欧化工有限公司, 色谱纯), 娃哈哈纯净水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备

2.1.1 对照品溶液的制备 精密称取补骨脂素对照品 2.26 mg, 置 100 mL 量瓶, 加甲醇定容, 摇匀, 即得。

2.1.2 供试品溶液的制备 将无花果叶粉碎, 过内径 2 000 μm 筛 (1 号筛, 10 目), 精密称取 1.0 g, 制无花果叶粉末 1.3 g (相当于无花果叶 1.0 g), 置具塞锥形

收稿日期 2011-08-12 修回日期 2011-09-28

作者简介 刘毅 (1966-), 女, 贵州贵阳人, 教授, 学士, 从事中药制剂教学及研究工作。电话: 0851-5652305, E-mail: 635798589@qq.com。