

HPLC 测定 β -榄香烯冻干针剂中主药的含量

袁子民, 赵琳, 王静*, 程岚

(辽宁中医药大学药学院, 辽宁大连 116600)

[摘要] 目的:建立 HPLC 测定 β -榄香烯纳米粒冻干针剂中主药含量的测定方法。方法:采用高效液相色谱法,以甲醇-水(95:5)为流动相,柱温室温,检测波长 210 nm。结果: β -榄香烯在 0.224 ~ 1.792 μg 呈良好线性关系($r=0.9996$),平均加样回收率为 97.0%,RSD 为 1.3%。结论:本法简便、灵敏、准确、重复性好,可用于 β -榄香烯纳米粒冻干针剂中 β -榄香烯的含量测定。

[关键词] 高效液相色谱法; β -榄香烯纳米粒; 冻干针剂; β -榄香烯

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)20-0064-03

Determination of β -Elemene in Lyophilized Powder for Injection of β -Elemene-Polybutylcyanoacrylate Nanoparticles by HPLC

YUAN Zi-min, ZHAO Lin, WANG Jing*, CHENG Lan

(Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a HPLC method for the simultaneous determination of β -elemene in lyophilized powder for injection of β -elemene-polybutylcyanoacrylate nanoparticles. **Method:** The analysis was performed on DiamonsilTM C₁₈ (4.6 mm \times 200 mm, 5 μm). The mobile phase was MeOH-water (95:5), The wavelength of the detector was set at 210 nm. **Result:** β -Elemene presented a good linear correlation in range of 0.224-1.792 μg ($r=0.9996$). The average recovery was 97.0% (RSD 1.3%). **Conclusion:** The method is simple, rapid and accurate, and suitable for the quality control of lyophilized powder for injection of β -ELE-PBCA-NP.

[Key words] HPLC; β -elemene-polybutylcyanoacrylate nanoparticles; lyophilized powder for injection; β -elemene

β -榄香烯(β -elemene, β -ELE)由抗癌中药榄香烯挥发油进一步精馏纯化,主要去除 γ 、 δ -榄香烯异构体,得到的抗癌单体有效成分。为降低毒副性,提高其治疗肝癌的效果,采用界面缩聚法制备了肝靶向 β -榄香烯聚氰基丙烯酸正丁酯纳米粒(β -ELE-PBCA-NP)^[1-2]。由于 β -ELE-PBCA-NP 是胶体溶液,

长时间放置有自聚倾向,为提高其稳定性,保证其质量和疗效,故将其制成冻干粉针剂。为控制其质量,本文采用 HPLC 测定了 β -榄香烯含量,为建立其质量标准提供依据。

1 仪器与试剂

Agilent 1100 型高效液相色谱仪,CHRIST ALPHA 1-4 LD 型冷冻干燥机(德国 Christ 公司), β -榄香烯原料药(大连远大制药有限公司提供,含量 > 98%), β -榄香烯对照品(中国药品生物制品检定所,批号 100268-200401,含量 > 99%), α -氰基丙烯酸正丁酯(BCA,北京瞬康医用胶有限公司),poloxamer 188(德国 BASF),Dextran-70(西安罗森伯科技有限公司),乳糖为注射级规格,甲醇为色谱纯,其余均为分析纯。

[收稿日期] 20111115(008)

[基金项目] 辽宁省教育厅 2009 年度高等学校科研项目(2009A499);辽宁中医药大学优秀青年药理学人才基金(yxrc0910)

[第一作者] 袁子民,副教授,从事药物新制剂及新药研究与开发,E-mail:yuanzimin@163.com

[通讯作者] *王静,从事新药质量标准研究,E-mail:wjyuanmeng@163.com

2 方法与结果

2.1 β -榄香烯纳米粒冻干针剂的制备 取 β -榄香烯及BCA适量用丙酮溶解作为有机相, poloxamer 188及Dextran-70适量用蒸馏水溶解作为水相, $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸调pH 3.0。在室温转速磁力搅拌下,将有机相按一定比例缓缓加入水相中,搅拌3 h至有机溶剂挥尽,用 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH调pH为7.0,继续搅拌0.5 h,过G3漏斗,低温静置,即得乳白色泛蓝色乳光的 β -ELE-PBCA-NP胶体溶液^[1]。取制备的 β -榄香烯PBCA纳米粒胶体溶液,加入5%乳糖,使溶解,用微孔滤膜滤过后按每瓶2.0 mL分装于西林瓶中, $-45 \text{ }^\circ\text{C}$ 预冻4 h,然后在一定真空度下升温至 $-10 \text{ }^\circ\text{C}$ 维持4 h,再升温至 $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 维持4 h,出箱、加塞、压盖密封,即得 β -榄香烯纳米粒冻干粉针剂。

2.2 色谱条件 Diamonsil C_{18} 色谱柱(4.6 mm \times 200 mm, 5 μm), 流动相甲醇-水(95:5), 柱温室温, 检测波长210 nm, 流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

2.3 线性关系考察 分别精密吸取 β -榄香烯对照品($0.0896 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 2.5, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0 μL , 按上述色谱条件测定峰面积, 以峰面积积分为纵坐标, β -榄香烯对照品进样量为横坐标, 绘制标准曲线。其回归方程为 $Y = 516.8X + 3.2$ ($r = 0.9996$)。结果表明, β -榄香烯进样量在 $0.224 \sim 1.792 \text{ } \mu\text{g}$ 与峰面积呈良好的线性关系。

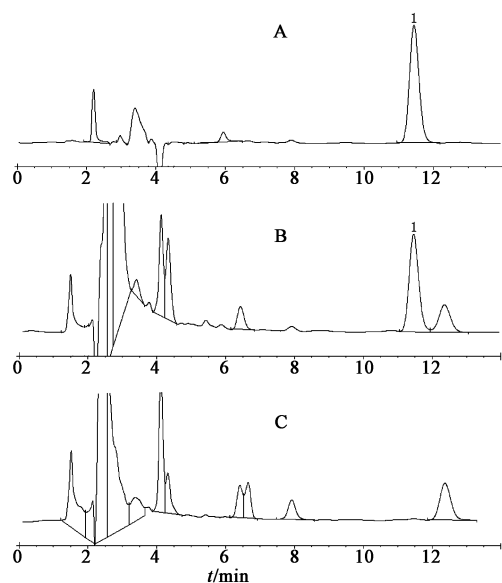
2.4 供试品溶液的制备 取 β -榄香烯PBCA纳米粒冻干粉针, 精密加入2.0 mL注射用水, 使之复溶, 摇匀, 精密量取复溶后的纳米粒胶体溶液1.0 mL, 置10 mL量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.5 空白PBCA纳米粒溶液的制备 不加入 β -榄香烯原料药, 其余按照 β -榄香烯纳米粒冻干针剂的制备方法及供试品溶液的制备方法, 同法制成空白PBCA纳米粒溶液, 作为空白对照溶液。

2.6 阴性干扰试验 精密吸取 β -榄香烯对照品溶液、空白对照溶液、纳米粒冻干粉针供试品溶液各10 μL , 按上述色谱条件测定。结果空白对照溶液在与 β -榄香烯相同保留时间处无色谱峰出现(图A~C), 对本品含量测定无干扰, 结果见图1。

2.7 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液10 μL , 注入高效液相色谱仪, 连续进样6次, 测定色谱峰峰面积, 结果RSD 1.4%, 表明精密度良好, ($n = 6$)。

2.8 重复性试验 取同一批样品各6份, 分别按供试品溶液制备方法操作, 精密吸取各供试品溶液10



A. 对照品; B. 样品; C. 空白; 1. β -榄香烯

图1 β -榄香烯纳米粒冻干针剂 β -榄香烯测定HPLC

μL , 分别注入高效液相色谱仪, 测定, 结果样品平均含量为 3.2 mg/支 , RSD 1.9% ($n = 6$)。

2.9 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液, 按0, 2, 4, 6, 8 h间隔, 分别进样, 测定色谱峰峰面积, 结果表明, 样品溶液在8 h内保持稳定, RSD 1.7% ($n = 5$)。

2.10 回收率试验 取已知含量的本品(含量 3.2 mg/支), 精密加入2.0 mL注射用水, 使之复溶, 摇匀, 精密量取复溶后的纳米粒胶体溶液0.5 mL, 置10 mL量瓶中, 分别精密加入1.0 mL β -榄香烯对照品溶液($602 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 其余按2.4供试品溶液制备方法制备, 同法重复6次, 依法测定, 见表1。

表1 β -榄香烯加样回收率试验($n = 6$)

| No. | 样品含量 / μg | 对照品 加入量 / μg | 实测量 / μg | 回收率 /% | 平均值 /% | RSD /% |
|-----|-------------------------|-------------------------------|------------------------|-----------|-----------|-----------|
| 1 | 575 | 602 | 1 170 | 98.8 | | |
| 2 | 575 | 602 | 1 152 | 95.7 | | |
| 3 | 575 | 602 | 1 150 | 95.3 | | |
| 4 | 575 | 602 | 1 175 | 99.7 | 97.0 | 1.8 |
| 5 | 575 | 602 | 1 163 | 97.6 | | |
| 6 | 575 | 602 | 1 159 | 96.8 | | |

2.11 样品含量测定 取3批样品, 按供试品溶液的制备方法制备, 按上述色谱条件, 依法测定, 结果见表2。

3 讨论

纳米粒冻干针剂中 β -榄香烯的含量测定曾采

去皮与不去皮桔梗饮片的色谱鉴别

李丽,肖永庆*,于定荣,麻印莲,黄文倩,陈梁
(中国中医科学院中药研究所,北京 100700)

[摘要] 目的:建立去皮与不去皮桔梗饮片鉴别方法。方法:采用 TLC 和 HPLC,对去皮与未去皮桔梗饮片进行定性鉴别。结果:两种桔梗饮片的 TLC 图谱及 HPLC 图谱差异显著,未去皮桔梗饮片比去皮桔梗饮片多出 3 个斑点;HPLC 图谱显示两种饮片均含有 13 个共有峰,但未去皮桔梗比去皮桔梗多出 5 个色谱峰,可以用于两种饮片的鉴别。结论:建立的 TLC 和 HPLC 图谱鉴别方法简便易行,可有效地区分去皮与未去皮桔梗药材和饮片,丰富了桔梗饮片的质量评价方法。

[关键词] 桔梗;去皮饮片;不去皮饮片;色谱鉴别

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)20-0066-03

Identification of Peeled and Unpeeled Pieces of *Platyeodon grandiflorum*

LI Li, XIAO Yong-qing*, YU Ding-rong, MA Yin-lian, HUANG Wen-qian, CHEN Liang
(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medicinal Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] Objective: To establish a new method to identify the peeled and non-peeled pieces of *Platyeodon grandiflorum*. Method: TLC and HPLC chromatography were used to identification. Result: There have significant differences in two kinds of pieces. The non-peeled pieces have three extra spots more than the peeled pieces and the HPLC chromatography showed five extra peaks expect thirteen common peaks. Conclusion:

[收稿日期] 20111029(003)

[基金项目] 国家中医药管理局中医药科学技术研究专项(06-07ZQ20);国家科技重大专项项目(2009ZX09301-005-03)

[第一作者] 李丽,博士,助理研究员,从事中药炮制及中药化学研究

[通讯作者] *肖永庆, Tel:010-84040221, E-mail:x.heqi@163.com

表 2 样品测定(n=3) mg/支

| 批号 | β -榄香烯含量 |
|--------|----------------|
| 110701 | 3.2 |
| 110702 | 3.4 |
| 110703 | 3.1 |

用 β -ELE-PBCA-NP 胶体溶液中 β -榄香烯的含量测定方法^[4],以乙腈-水(90:10)为流动相,但制成冻干粉针后,由于加入了填充剂乳糖,造成 β -榄香烯色谱峰与乳糖引入的杂质峰分离不佳,经流动相多次筛选,采用甲醇-水(95:5)为流动相,供试品色谱中待测组分分离度良好。

采用本研究所建立的含量测定方法^[3,5],对冻干前的胶体溶液与纳米粒冻干针剂中 β -榄香烯均可以进行含量测定,冻干前后 β -榄香烯含量无明显

变化,表明冻干制剂工艺对其产品较为稳定。

[参考文献]

- [1] 花文峰,蔡绍晖. β -榄香烯抗肿瘤作用的基础与临床研究[J]. 中药材, 2006, 29(1):93.
- [2] 王博,袁子民,程岚. β -榄香烯聚氰基丙烯酸正丁酯纳米粒的制备工艺研究[J]. 中草药, 2011, 42(3):474.
- [3] 王隶书,李阳,程东岩. HPLC 测定通栓冻干粉针中人参皂苷 Rb3 的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(3):11.
- [4] 袁子民,王博,程岚. RP-HPLC 测定 β -榄香烯聚氰基丙烯酸正丁酯纳米粒中主药的含量[J]. 医药论坛杂志, 2010, 31(19):6.
- [5] 黄伟,崔光华,王玉丽,等. PicoGreen 荧光法结合茚三酮比色法测定 pDNA 壳聚糖纳米粒中 pDNA 的包封率和载药量[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(2):226.

[责任编辑 顾雪竹]