

灯盏花乙素含水类型及水分测定方法的研究^{*}

王 珺¹, 张 伟^{1△}, 李之恒^{1,2}, 杨兆祥¹

(1. 昆药集团股份有限公司药物研究院, 云南 昆明 650100; 2. 云南中医学院药学院, 云南 昆明 650500)

摘要: 目的 研究灯盏花乙素原料药含水类型及水分测定方法。方法 采用热重分析(Thermogravimetric Analysis, TGA)、示差扫描量热法(Differential Scanning Calorimetry, DSC)、温度控制 X-射线粉末衍射(X-ray Powder Diffraction, XRPD)方法研究了灯盏花乙素原料药的含水类型。采用常温减压烘干, 恒温减压烘干, 卡式水分滴定三种方法测定灯盏花乙素原料药中的水分。结果 灯盏花乙素含有二分子结晶水和少量吸附水, 水分测定方法优选卡式水分滴定法。结论 灯盏花乙素为二水合物, 且升温脱水后降温放置易重新形成二水合物。

关键词: 灯盏花乙素; 水分测定方法; 含水类型; 结晶水

中图分类号: R284 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2015)06-0025-03

灯盏花素是从菊科植物短葶飞蓬 *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand.-Mazz. 的干燥全草中提取分离得到的黄酮类化合物, 其主要成分为灯盏花乙素^[1-2]。现代药理研究表明, 灯盏花乙素具有增加脑血流量, 改善微循环; 抑制血小板凝集、促进纤溶活性、抗血栓形成等作用^[2-6]。临床上可用于治疗脑供血不足、脑出血所致后遗症、高粘脂血症、脑血栓、冠心病、心绞痛等疾病^[7-9]。

本文对灯盏花乙素原料药的含水类型及水分测定方法进行了研究^[10-15]。含量测定作为质量控制的关键指标, 其一般以干燥品或无水物计, 因此本文的研究内容对于弄清药物性质, 合理选择其质控方法, 科学制定质控限度具有指导意义。文章首先比较研究了 3 种水分测定方法, 结果表明灯盏花乙素可能含有结晶水, 遂进行了含水类型及含结晶水个数的研究。

1 仪器与试药

1.1 仪器

VD53 型真空干燥箱 (BINDER); CP225D 型分析电子天平 (Sartorius); XP205 型分析电子天平 (METTLER TOLIDO); TitroLine KF 型卡式水分测定仪 (SCHOTT Instruments); Empyrean 型 X 射线粉末

衍射分析仪 (PANalytical); Q500/Q5000 型热重分析仪 (TA); Q2000 型差示扫描量热仪 (TA); 870 Titrimo plus 型卡氏水分测定仪 (Metrohm)。

1.2 试药

灯盏花乙素 (昆药集团股份有限公司药物研究院提供, 批号: 20121026、20121029、20121030、20130521、20130527、20130529); 单组元无吡啶型卡尔费休试剂 (分析纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司, 批号 20120821); HYDRANAL[®] -Composite 5 容量法单组元滴定剂 (Fluka, 批号 SZBC1660V)。

2 方法与结果

2.1 水分测定方法研究

2.1.1 常温减压干燥法

取供试品约 0.5g, 精密称定, 置五氧化二磷干燥器中, 在常温 (20~30℃) 条件下, 减压干燥至恒重, 计算减失重量^[1]。

2.1.2 60℃恒温减压干燥法

取供试品约 0.5g, 精密称定, 置五氧化二磷干燥器中, 在 60℃恒温条件下, 减压干燥至恒重, 计算减失重量^[10]。

2.1.3 卡氏水分 (Karl Fischer Method, KF)

无水甲醇做溶剂, 取供试品约 50mg, 精密称

^{*} 基金项目: 云南省重点新产品开发计划项目 (2014BC009)

收稿日期: 2015-07-13

作者简介: 王珺 (1988-), 女, 云南昆明人, 工程师, 研究方向: 药物分析。

△通信作者: 张伟, E-mail: wzhangkm@sohu.com

定,完全溶解,用卡尔·费休试剂滴定,记录滴定液体积。用水标定滴定度,计算水分^[17]。

2.1.4 测定结果对比

3 批中试样品测定结果见表 1:

表 1 水分测定方法研究测定结果对比

样品批号	干燥失重/%		卡式水分 /%
	常温减压干燥法 (20~30℃)	恒温减压干燥法 (60℃)	
20121026	1.59	8.05	8.971
20121029	1.79	7.89	8.795
20121030	1.64	7.77	8.952

卡式水分和恒温减压测得的水分值远高于常温减压,推测可能因前者测定吸附水和结晶水总和,而后者条件较温和仅测定吸附水。

2.2 含水类型研究

2.2.1 含水类型推断

联合采用热重分析(Thermogravimetric Analysis,TGA)、示差扫描量热法(Differential Scanning Calorimetry,DSC)、卡氏水分滴定法(Karl Fischer Method,KF)推断含水类型。测定参数分别为:TGA(样品盘:铝盘,敞开;温度范围:室温~300℃;扫描速率:10℃/min;保护气体:氮气);DSC(样品盘:铝盘,压盖;其余均同TGA);KF(溶剂:无水甲醇)。

TGA 和卡式水分测定结果(见表 2)表明加热情况下丢失的重量很可能来源于水。TGA 和 DSC 图谱(见图 1)可见,60℃~200℃TGA 有一失重平台,对应 DSC 中吸热峰,推断为丢失结晶水产生。

表 2 TGA 和卡式水分测定结果

样品批号	TGA 失重/%	卡式水分/%
20130521	8.72	8.34
20130527	7.89	8.02
20130529	8.52	8.26

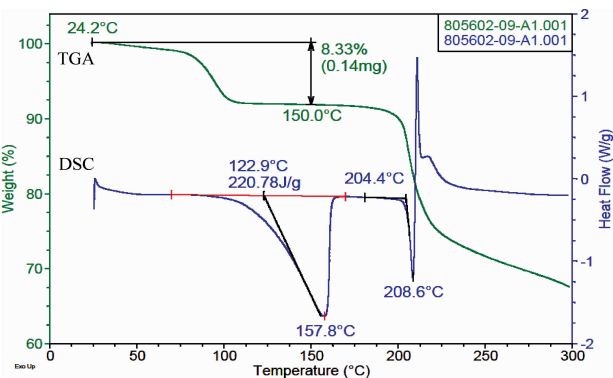


图 1 TGA 和 DSC 图谱

2.2.2 含结晶水的确证

在氮气保护下,对供试品在不同温度下进行 XRPD 表征测定。

温度控制 XRPD 测定参数(X 射线 Cu,K α , K α 1:1.540598Å、K α 2:1.544426Å,K α 2/K α 1 强度比例:0.50;X 射线光管设定:45 kV,40 mA;发散狭缝:自动;单色器:无;扫描模式:连续;扫描范围(°2Theta)3°~40°;扫描步长(°2Theta)0.013;扫描时间:约 4 min)

结果显示升温至 50℃ 时未发生晶型变化,升温至 150℃ 形成新的晶型,且该晶型在降温过程中进一步发生转变(见图 2);降至室温,暴露在实验室湿度二十分钟后,回到初始晶型(见图 3)。晶型变化可能由脱去结晶水所致,因此推测供试品中含有结晶水,并且二水合物脱水后,在室温条件下不稳定,极易吸水重新转变回二水合物。

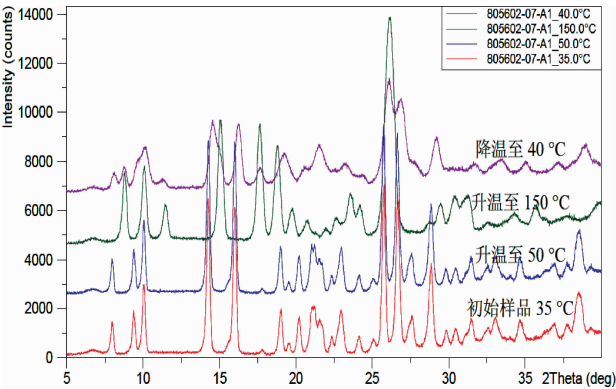


图 2 升温 and 降温过程中的 XRPD 图谱

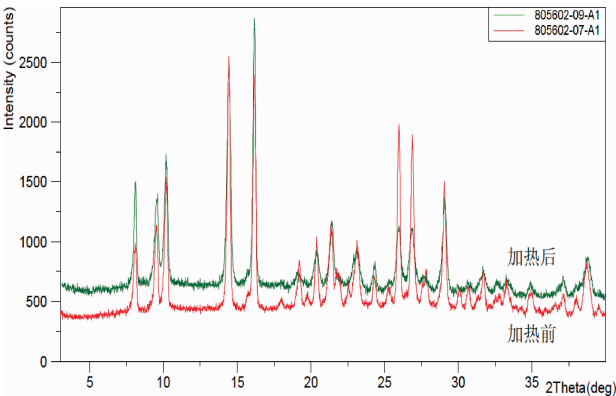


图 3 原始样品和降温放置后样品 XRPD 图谱对比

2.2.3 含结晶水个数测定

恒温 TGA 实验参数(温度范围:室温~250℃;重量变化速率:开始 0.23%/min,停止 0.01%/min;其余同 TGA)。

结果见图 4,样品分两步失水,低温脱去吸附

水,高温脱去结晶水。3 批样品测定结果见表 3,结晶水含量为 7.21%;模拟计算灯盏花乙素含不同数量结晶水的理论结晶水含量见表 4。对比可见供试品应为二水合物。

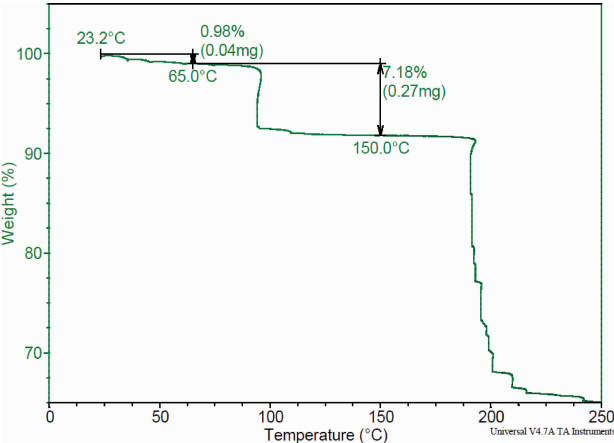


图 4 恒温 TGA 图谱

表 3 3 批中试样品恒温 TGA 测定结果

样品批号	结晶水含量/%	均值/%
20130521	7.10	7.21
20130527	7.18	
20130529	7.35	

表 4 结晶水个数和理论含量计算

结晶水个数	结晶水含量/%
1	3.75
1.5	5.52
2	7.22
2.5	8.87
3	10.46

注:分子量:灯盏花乙素 462.37,水 18.02

3 讨论

由 DSC 结果可见,升温至 60℃即开始丢失结晶水,可印证 60℃恒温减压干燥条件下结晶水已失去。60℃恒温减压干燥法测定的是结晶水和吸附水的总和,但该法测定效率低。卡式水分滴定法作为水分测定的首选方法^[18],考虑到测定效率及成本,对于该品种优选该方法。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(第一增补本)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:127.

[2] 张峻,李雪松,张卫东. 中药灯盏花化学成分与药理活性研究进展[J]. 药学实践杂志,2002,20(2):103-107.

[3] 杨澍,史海雯,高秀清,等. 天然产物抗凝血作用研究进展[J]. 天津中医药,2014,31(5):318-320.

[4] 杨丽梅,顾军,林明建,等. 灯盏花素的研究进展[J]. 天津药学,2010,22(1):56-60.

[5] 王斌,马瑜红,胡清茹,等. 灯盏细辛注射液对大鼠肾脏缺血-再灌注损伤的保护作用研究[J]. 中国生化药物杂志,2014,34(1):38-40.

[6] 林莉莉,邹浩军,常静. 灯盏乙素和灯盏花素对急性心肌梗死的保护作用[J]. 中国药业,2010,19(13):12-13.

[7] 何敬成,麦少珍,张碧青. 灯盏细辛和灯盏花素在心脑血管疾病方面的疗效比较[J]. 海峡药学,2015,27(5):94-96.

[8] 李凤英,曹锦江,李海华,等. 中药灯盏花素新制剂的研究进展[J]. 临床合理用药,2015,8(16):180-181.

[9] 高帅荣,万屏. 灯盏花素临床应用进展[J]. 云南中医中药杂志,2009,30(3):67-68.

[10] 袁耀佐,胡昌勤,金少鸿. 他唑巴坦中结晶水的研究[J]. 药学学报,2002,37(2):144-147.

[11] 杨成,胡松,王金南,等. 热分析技术在药物分析中的应用[J]. 广州化工,2012,40(14):36-37.

[12] 刘文峰,林木良. 热重法在药品水分测定上的应用研究[J]. 广东化工,2003(2):1-3,7.

[13] 左志辉,左文坚. 热重法用于测定无机化合物和有机酸盐类药物的结晶水[J]. 天津药学,1999,11(4):47-48.

[14] 左志辉. 热分析法在药学研究中的最新进展[J]. 中国药品标准,2004,5(1):14-17.

[15] 冯海燕,刘晓地,葛艳蕊,等. 水合盐的几种脱水过程探讨[J]. 无机化学学报,2000,16(1):89-96.

[16] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)[M]. 2010年版. 北京:中国医药科技出版社,2010:附录 59.

[17] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)[M]. 2010年版. 北京:中国医药科技出版社,2010:附录 60.

[18] 严相平,林力行. 制订新药质量标准时有关水分、干燥失重的测定及其限度的确定[J]. 江苏药学与临床研究,2004,12(3):63-64.

(编辑:陈柏君)