

14.77 min,可见随着丸剂颗粒本身的减小,溶出速率也不断加快。

中药的疗效与其有效成分的溶出速度密切相关,而溶出速度往往与药物的粉末细度有关,若能改善药物的粉末细度,提高中药有效成分的溶出速率,会提高临床疗效。中药材经超细处理后,由于其粒度细微均匀,比表面积增大,孔隙率增加,吸附性增强,溶解性增强,亲和力变大,化学反应速率增加,能使药物较好地分散、溶解在胃液里,且与胃粘膜的接触

面积变大,更易被胃肠道吸收,提高治疗效果。

参考文献:

- [1] 金万勤,黄芳,郭立玮.苍术、黄柏及二妙丸超细微粉的生物药剂学的研究I.扫描电子显微镜技术对超细微粉的表征[J].中草药,2001,32(4):306-309.
- [2] 中国药典[S],2000年版.二部.
- [3] 杨基森.中药制剂设计学[J].贵阳:贵州科学技术出版社,1992.
- [4] 朱芳海,奚念朱.优选最佳数学模型用于固体制剂体外溶出实验数据处理程序的设计[J].药学学报,1994,29(6):459-463.
- [5] 李全忠.用威布尔函数求溶出度参数[J].中国医院药学杂志,1991,11(1):30-31.

RP-HPLC测定人血清中阿魏酸浓度的改进方法

黄敬群,黄熙*,张莉,徐睿**,任平***

(第四军医大学西京医院中医药研究中心 中药临床药理研究室,陕西 西安 710032)

摘要:目的 建立改良的 RP-HPLC测定人血清中阿魏酸浓度的分析方法。方法 RP-HPLC法,采用 Kromasil-C₁₈柱为分析柱,甲醇-水-冰醋酸(36.4:63:0.6)为流动相,流速 1.0 mL/min,检测波长 322 nm,内标物为对羟基苯甲醛。用乙腈既去除人血清中的蛋白,又提取血清中的阿魏酸。结果 阿魏酸在 9.94~159.04 ng/mL与峰面积呈良好线性关系($r=0.9925$),日内和日间 RSD均 < 10%,平均回收率为 99.77%,最低检测浓度为 5 ng/mL。结论 该法简便、快速、灵敏、重现性好、低毒,适用于人血清中阿魏酸的定量分析。

关键词: 阿魏酸;血清;高效液相色谱

中图分类号: R285.61; R286.02 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)09-0792-03

Improved RP-HPLC method for determination of ferulic acid concentration in human serum

HUANG Jing-qun, HUANG Xi, ZHANG Li, XU Rui, REN Ping

(Research Center of TCM, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

Abstract Object To develop an improved RP-HPLC method for determining ferulic acid in the human serum. **Methods** The determination was carried on RP-HPLC, using Kromasil-C₁₈ column, methanol-water-acetic acid (36.4:63:0.6) as mobile phase with a flow rate of 1.0 mL/min and at the detection wavelength of 322 nm, and *p*-hydroxybenzaldehyde was used as internal standard. The serum sample was deproteinized with acetonitrile to extract ferulic acid. **Results** The calibration curve showed good linearity over the range of 9.94-159.04 ng/mL ($r=0.9925$). RSD was less than 10% within day and day-to-day, the average recovery was 99.77% and the minimal concentration in serum was 5 ng/mL. **Conclusion** This method, which is simple, rapid, sensitive, reproducible and low toxic, is appropriate for the quantitative determination of ferulic acid in the human serum.

Key words ferulic acid; serum; HPLC

阿魏酸是川芎等中药的有效成分之一,具有抗氧化和自由基清除作用,及抑制血小板聚集和血栓形成。现已有人工合成成品,用于抗动脉粥样硬化治疗^[1]。阿魏酸血药浓度的测定虽已有 HPLC方法报道^[1-6],但尚不理想,如所用化学试剂毒性大,方法检

出限较高等。因此,本研究对其检测方法进行了改进

1 仪器 试药和受试对象

1.1 仪器:美国 Waters 高效液相色谱系统(7725 手动进样器,600泵,996二级管阵列检测器,M³²数据处理系统),TGL 16G 台式高速离心机

* 收稿日期:2002-01-31

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.30070912);高等学校骨干教师资助计划

作者简介:黄敬群(1970-),男,黑龙江哈尔滨人,住院医师,1994年毕业于河北中医学院,现为第四军医大学中西医结合专业2000级硕士研究生,研究方向为证与方剂的药物动力学。Tel 029-2554090 E-mail tcmwsh@fmmu.edu.cn

* 通讯作者 Tel 029-3224474

** 本院老年病科

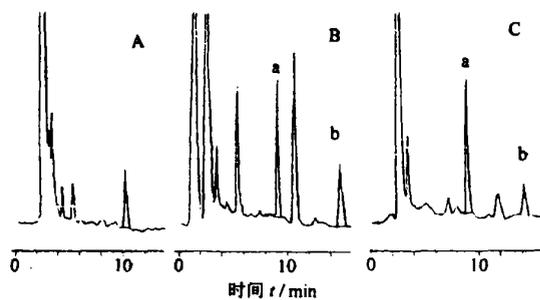
1.2 药物与试剂:阿魏酸对照品(中国药品生物制品检定所提供,批号:773-9203),对羟基苯甲醛内标物由西安市化学试剂厂出品(化学纯),乙腈、甲醇、冰醋酸等有机试剂均为分析纯,水为自制双蒸水,健康人空白混合血清由本院血库提供。川芎、红花、降香、赤芍、丹参药材从陕西省药材公司统一购买,组成冠心II号方剂

1.3 受试对象:健康自愿者6名(来自陕西省合阳县),3男3女,年龄20~58岁,平均年龄34.8±15.4岁,体重50~67.5kg,平均体重(57.9±5.5)kg。受试者受试前经常规化验和查体均正常,无心、肝、肾和胃肠道等疾患。服药前14h未饮含酒精饮料,未吸烟,受试期间少量饮水。试验方案经西京医院医学伦理委员会批准通过,试验前均签署知情同意书。

2 方法和结果

2.1 色谱条件:色谱柱:中国科学院大连化学物理研究所KF系列HPLC柱,Kromasil C₁₈柱(250mm×4.6mm,5μm);流动相:甲醇-水-冰醋酸(36.4:63:0.6);检测波长:322nm,流速:1.0mL/min;柱温:室温。

在上述色谱条件下,血样中阿魏酸和内标物分离完全,空白血清无干扰,通过二维、三维色谱图对其吸收峰定性,其保留时间均与对照品一致(图1)。



a 阿魏酸 b 对羟基苯甲醛

A 空白血清 B 加入对照品的血清 C 口服后的血清样品

图1 HPLC图谱

2.2 对照品溶液的制备:精密称取阿魏酸对照品0.994mg,置于100mL容量瓶中,甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,即得对照品贮备液。同法配制对羟基苯甲醛,浓度为23.94μg/mL。临用前,取阿魏酸贮备液适量,用甲醇按倍数稀释法稀释至所需浓度,即得阿魏酸标准工作液。

2.3 口服冠心II号汤剂的制备:采用临床煎煮方法。

川芎、红花、降香、赤芍、丹参药材按1:1:1:1:2的质量比配制成冠心II号成方,总量为1500g。充分混匀后放入不锈钢锅内,加水3000mL,浸泡30min,煮沸30min,过滤药渣再加水1500mL,煮沸30min,过滤,滤液合并。多次重复上述步骤,将所得全部滤液混在一起,加热浓缩得每毫升药液内含有川芎、红花、降香、赤芍各0.5g,丹参1.0g。-4℃冰箱冷藏待用。

2.4 样品制备:受试者空腹14h后,按3g/kg剂量(其中川芎为0.5g/kg)服用冠心II号汤剂,分别于服药前及服药后5,10,15,30,60,90,120min从肘静脉取血3mL,离心血清,置-20℃冰箱保存待测。

2.5 血样预处理:用微量加样器吸取1.0mL血清,置于5mL塑料高速离心管中,准确加入对羟基苯甲醛内标液10μL,电动混匀器充分混匀45s,然后加入乙腈3.5mL后再次混匀5min,10000r/min离心10min,取上清液置5mL一次性塑料试管中,在57℃水浴上通氮气流挥干后用100μL流动相复溶,再次10000r/min离心10min,取上清液50μL进样。

2.6 标准曲线制备:取空白血清1.0mL于5mL塑料高速离心管中并编号,加入不同体积的阿魏酸对照品溶液,其中阿魏酸浓度分别为9.94,19.88,39.76,49.70,79.52,159.04ng/mL,每管加入对羟基苯甲醛内标液10μL,充分混匀后按2.5项下方法处理,测定,以阿魏酸和内标物的峰面积比与其浓度作线性回归,得到此色谱条件下阿魏酸的回归方程为:Y=0.00102+0.01247X, r=0.9925,阿魏酸在9.94~159.04ng/mL线性关系良好。以信噪比为3时计算,阿魏酸的最低检测限为0.596ng,血清中阿魏酸的最低检测浓度为5ng/mL。

2.7 回收率及精密度:取线性范围内不同浓度,分别测定其回收率和日内及日间精密度,平均回收率为99.77%,RSD=1.23%(n=5),平均日内精密度RSD为2.44%,平均日间精密度RSD为3.80%。回收率和精密度均较好。

2.8 样品血药浓度测定:取已制备的血清样品在室温下融化后,按2.5项下方法处理后,测定,由标准曲线计算出阿魏酸的血药浓度。结果见表1。

表1 健康人口服冠心II号后血清中各时点的阿魏酸浓度(n=6)

时间(min)	5	10	15	30	60	90	120
阿魏酸浓度(ng/mL)	7.66±1.80	16.55±4.85	23.0±7.69	27.49±6.37	23.03±10.89	11.38±2.27	6.525±0.95

3 讨论

3.1 本方法的主要优点是通过对前处理方法的改进,克服了以前方法中化学试剂毒性大,方法检出限较高等缺点。文献^[5]用乙腈-磷酸缓冲液做流动相,我们观察到磷酸盐在实验结束后需用大量水冲洗,如果冲洗不干净,容易有晶体析出,对色谱系统产生不利影响。用甲醇-水-冰醋酸做流动相,组成简单,容易调配,一般对色谱系统无明显不良影响。另外乙腈的毒性较大,而甲醇-水-冰醋酸毒性低,用甲醇-水-冰醋酸做流动相可以在具体的操作过程中减轻对实验者的身体危害。

3.2 复方效应成分药动学假说(PK)^[7~11]认为复方进入体内成分能定性定量。本室曾应用建立的血样预处理方法——水浴法^[10]成功地测定了健康人口服川芎汤后经时变化的血清中阿魏酸浓度,并直接测定了健康人口服冠心II号(五味药分煎)后经沸水浴处理过的血清样品中的阿魏酸^[10]。本实验结果一方面进一步证明了“复方进入体内成分能定性定量”的科学性:其体内成分不但可以测,而且还可以根据具体的实际情况(经费、检测限要求等)而采用不同方法测定;另一方面由于本实验中测定健康人口服冠心II号(五味药合煎)后体内阿魏酸的浓度变化的条件和实际的临床应用冠心II号方时体内阿魏酸的浓度变化条件几乎完全一致,所以此次成功地测定人口服冠心II号合煎液后体内阿魏酸的浓度更为直接和有意义,为进一步研究冠心II号方剂体内成分

谱及治疗中的药物监测^[11]提供了依据。

3.3 作为新方法,本实验仅为初步实践。本法预处理复方血清成分,广泛适用性如何?不同动物血清中复方来源的阿魏酸,用本法提取的规律性如何?同水浴法相比,对色谱柱的污染如何?需要进一步研究。

参考文献:

- [1] 常明向,徐莲英,陶建生.阿魏酸钠大鼠体内药动力学研究[J].西北药学杂志,1995,10(2):81-83.
- [2] 扬敏,林曙光,吴桐.阿魏酸钠药代动力学研究[J].中药药理与临床,1988,4(4):28.
- [3] Fujiwara S, Noumi K, Sugimoto I, *et al.* Mass fragmentographic determination of ferulic acid in plasma after oral administration of gamma-oryzanol [J]. Chem pharm Bull, 1982, 3: 973.
- [4] Fujiwara S, Hamada T, Sugimoto I, *et al.* High-performance liquid chromatographic determination of ferulic acid in plasma [J]. Chem pharm Bull, 1983, 31: 1079-1081.
- [5] Wen A D, Huang X, Jiang Y P, *et al.* High-performance liquid chromatographic determination of free ferulic acid in serum of rabbits with blood stasis [J]. Acta Pharm Sin, 1995, 30(10): 762-767.
- [6] 黄熙,任平,张莉,等. HPLC直接测定血清阿魏酸方剂血样预处理新方法(I) [J]. 中草药, 1999, 30(3): 175-179.
- [7] 黄熙,陈可冀,任平. “复方效应成分药动力学”新假说的科学证据:要素、意义及前景 [J]. 中国中药杂志, 1997, 22(4): 250-252.
- [8] Huang X, Jiang Y P, Wen A D, *et al.* Is it possible to study the pharmacokinetics of chemical component of decoction? [J]. CJIM, 1995, 1(4): 297.
- [9] 黄熙,蒋永培,臧益民,等. 方剂化学成分药代动力学的研究进展 [J]. 中草药, 1995, 26(10): 546-549.
- [10] 黄熙,陈可冀,任平,等. 高效液相色谱直接测定沸水浴处理人血清中冠心I号来源的阿魏酸 [J]. 中国中西医结合杂志, 1999, 19(2): 71-73.
- [11] 任平,黄熙. 治法药理学突破口:研究方剂体内成分谱、靶成分及其治疗药物监测 [J]. 成都中医药大学学报, 2000, 23(2): 4-6.

大孔树脂对栀子苷分离效果的研究

吕茂平,乔庆彬,庞春燕,王琦*

(北京中医药大学,北京 100029)

摘要:目的 优选分离栀子苷的大孔树脂。方法 将栀子粗提液置大孔树脂中吸附,并以水、70%乙醇分别洗脱,以HPLC法测定洗脱液中栀子苷含量。结果 D301R、D396、D296和AB-8四种型号大孔树脂效果差异较大。结论

D301R型大孔树脂用作栀子苷的分离效果较好。

关键词:栀子苷;大孔树脂;分离;高效液相色谱

中图分类号:R284.2;R286.02

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2002)09-0794-03

Effect of macroporous resin in separation of gardenoside

LU Mao-ping, QIAO Qing-bin, PANG Chun-yan, WANG Yue-qi

(Beijing University of TCM, Beijing 100029, China)

* 收稿日期:2001-12-28

基金项目:国家中医药管理局中医药科学技术研究基金资助项目(国中医药科00-01KZ01号)

作者简介:吕茂平(1976-),男,江西广丰人,1998年毕业于江西中医学院,现在北京中医药大学攻读硕士学位,研究方向为中药成分及制剂技术的研究。Tel (010)64286851 E-mail Lvmp@sina.com