

薄层扫描法测定青蒿素脂质体和葡聚糖复合物中青蒿素的含量

江苏省药品检验所(南京 210008) 蔡美明*

摘要 用薄层扫描法测定青蒿素脂质体和葡聚糖复合物中青蒿素的含量,方法简便、准确灵敏,回收率分别为98.0%和96.8%。

关键词 青蒿素 脂质体 葡聚糖 薄层扫描

从中草药青蒿 *Artemisia annua* L. 中分离鉴定出一种具过氧基的倍半萜内酯单体青蒿素 (arteannuin), 是中药青蒿抗疟的有效成分^[1]。临床具有抗疟作用强、治疗效果快、毒副作用低等特点。但是, 由于它在体内排泄快、复发率高, 所以采用一些新型的 药物载体^[2] (如脂质体、葡聚糖等), 制成青蒿素的新剂型, 目的在于克服其治疗上的不足之处, 以延长其临床使用寿命。

有关青蒿素含量的测定方法现已报道的有碘量法^[3]、紫外分光光度法^[4]、高效液相色谱法^[5]等等。本实验采用薄层色谱扫描法测定脂质体和葡聚糖复合物制剂中青蒿素的含量。实验结果表明用薄层扫描法测定新剂型中青蒿素的含量时, 制剂中的药物载体 (脂质体、葡聚糖) 对含量测定没有影响, 且方法快速简便、准确灵敏。

1 仪器与试剂

CS-910型双波长薄层扫描仪(日本岛津); 青蒿素对照品(上海医科大学提供); 脂质体制剂、葡聚糖复合物制剂(自制); 玻璃板(20×20cm²); 微量注射器(上海医用激光仪器厂产); 硅胶G(青岛海洋化工厂产); 试剂均为分析纯。

2 实验条件

2.1 薄层板的制备: 取硅胶G与0.5%CMC-Na溶液按1:3(g/ml)比例混合调研至均匀的糊状, 由涂布器制成薄层厚度为0.3mm的薄层板, 室温晾干, 经110°C1h活化后置干燥器中备用。

2.2 展开剂: 经试验选用苯-乙酸乙酯(85:15)。

2.3 显色条件: 取对二甲基苯甲醛0.25g, 加85%磷酸2.92ml、冰醋酸47.6ml、水20ml溶解混匀即得显色剂。均匀喷雾显色剂4ml左右, 经80°C烘烤30min显色。

2.4 仪器参数: 经对青蒿素斑点光谱扫描测定后确定, 样品测定波长(λ_s)为580nm, 参比波长(λ_R)为700nm, 线性化器Sx=3, 狭缝为1.25×1.25mm。采用反射法锯齿扫描测定。

3 对照品与样品溶液的制备

3.1 对照品溶液的制备: 取青蒿素对照品约25mg, 精密称定, 置25ml容量瓶中, 加氯仿制成每1ml含青蒿素1.0mg, 即成对照品溶液。

3.2 样品溶液A制备: 精密量取制剂A(青蒿素脂质体)20.0ml置50ml量瓶中加入乙醇稀释至刻度, 摇匀即得样品溶液A。

3.3 样品溶液B制备: 精密称取制剂B(青蒿素葡聚糖复合物)50.0mg, 加水5ml溶解, 用氯仿分次提取(20、10、10、10ml), 合并氯仿提取液至50ml容量瓶中, 加氯仿稀释至刻度, 即得样品溶液B。

*Address: Cai Meiming, Jiangsu Provincial Institute for Drug Control, Nanjing

4 标准曲线的绘制

分别精密量取对照品溶液0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 μ l点于同一薄层板上，以展开剂展开，取出，晾干，烘烤显色后放置30min，测定各斑点的峰面积值。以峰面积值、青蒿素量(μ g)绘制标准曲线，得一条通过原点的直线，见表1。结果表明青蒿素在0~4 μ g范围内与其峰面积值呈良好的线性关系。

5 样品的测定

分别精密吸取样品溶液A、样品溶液B各10.0 μ l点样，同时在薄板上点对照品溶液1.0、2.0 μ l 2个点，然后按上述标准曲线绘制项下方法进行薄层扫描测定，结果如表2，薄层色谱图见图。

表2 青蒿素制剂中青蒿素含量测定结果

样品	编号	点样量(μ l)	测得青蒿素量(μ g)	制剂含量	CV (%)
青蒿素脂质体制剂	1	10.0	0.52	0.13mg/ml	2.2
	2	10.0	0.88	0.22mg/ml	1.8
青蒿素葡聚糖复合物制剂	1	10.0	1.44	0.14mg/mg	1.4
	2	10.0	1.54	0.15mg/mg	2.8
	3	10.0	1.50	0.15mg/mg	0.9
	4	10.0	1.08	0.11mg/mg	1.4

注：以上测定结果均为5次测定的平均值。

6 稳定性试验

取对照品溶液点样于薄层板上，展开、显色后，每隔一定时间测定斑点的峰面积值，共考察4h，实验表明显色后30min至4h内测定，结果稳定。

7 精密度测定

对薄层板上的同一斑点重复扫描5次，结果峰面值的CV为0.6%，同一样品在5块不同的薄板上分别进行含量测定，结果含量的CV为2.2%。

8 加样回收率试验

精密取对照品适量，加入2种制剂的样品(已测得含量)中，按上述方法点样、展开、

表3 加样回收率实验结果

制剂	加入标准品量(μ g)	测得量(μ g)	回收率(%)	平均回收率(%)	CV(%)
青蒿素脂质体制剂	1.0	0.684	98.4	98.0	1.8
	1.0	0.960	96.0		
	1.0	0.995	99.5		
青蒿素葡聚糖复合物	0.5	0.489	97.8	46.8	2.5
	0.5	0.470	94.0		
	0.5	0.493	98.6		

表1 青蒿素点样量与峰面积值的关系

编号	标准品点样量(μ g)	测得峰面积值	回归方程、相关系数
1	0	0	$Y = 10842 \cdot 8X - 0.067$ $r = 0.9993$
2	0.5	5802	
3	0.1	10871	
4	2.0	21521	
5	3.0	31440	
6	4.0	44215	

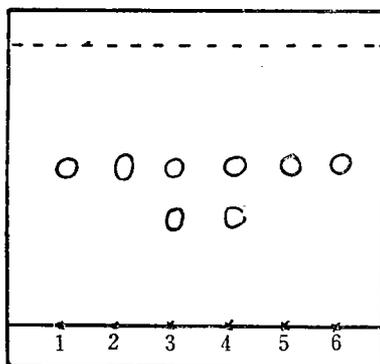


图 薄层色谱图

1、2-对照品 $R_f = 0.65$ 3、4-样品A载体 $R_f = 0.46$
5、6-样品B

(下转第376页)

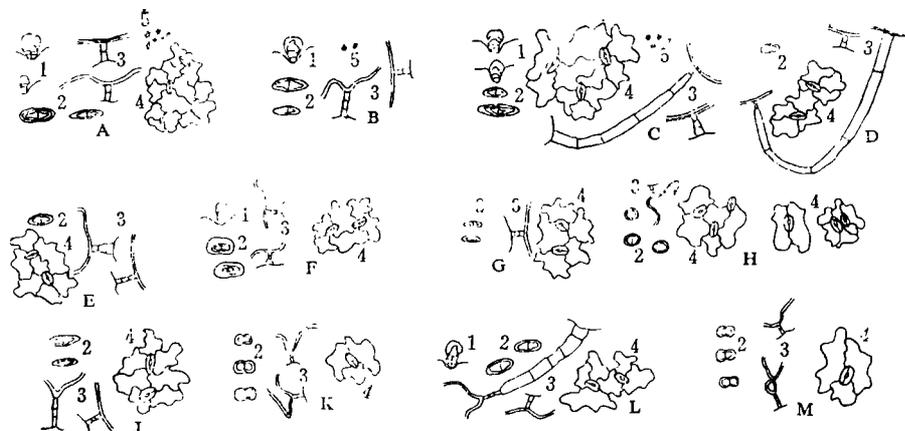


图2 12种药材T字毛、腺毛及气孔(A~M所示如图1)

1-腺毛(侧面观) 2-腺毛(顶面观) 3-T字毛 4-气孔 5-草酸钙结晶

4.3 观察了甘肃各地正品艾叶,发现其叶上的白色腺毛(有时也呈透明腺点)或小凹点均众多,而各地野艾,叶上白色腺点(有时也呈透明腺点及小凹点)众多至较少,变化明显,有时仅见稀少的透明腺点,文献^[5]也有类似之说。同时发现这种变化不仅与产地有关,也与季节相关。

4.4 由于蒿属植物外观相似,加上蒿属植物交替分布的现象比较普遍,因此,采集艾叶时往往混入同属其它植物,故商品艾叶中也常有混合现象。艾叶药材大多在花期前采收,此时基生叶及茎下部叶枯萎,商品艾叶主要来自茎中、上部的叶片,本文以此为主要研究对象。

致谢:承蒙中科院华南植物研究所林有润先生复核鉴定标本,特此致谢。

参 考 文 献

- | | |
|-------------------------------------|------------------------------|
| 1 中国药典。一部。1990, 68 | 1991, 76(2): 7 |
| 2 浙江省平喘药研究协作组,中草药, 1972(6): 1 | 5 刘训红,等。中草药, 1988, 11(2): 35 |
| 3 防治慢性气管炎艾叶油研究协作组,医药工业, 1977(10): 8 | (1993-07-23收稿) |
| 4 林有润编著。中国植物志。北京:科学出版社, | |

(上接第354页)

显色测定,计算其回收率,结果见表3。

9 讨论

青蒿素脂质体和葡聚糖复合物制剂为新型药物载体制剂,本文采用薄层扫描法测定其青蒿素含量,具有操作简便、结果准确可靠、重现性和回收率好等优点,可作为制定新剂型质量标准时的参考。

测定青蒿素葡聚糖复合品制剂时,曾对其水溶液层进行了青蒿素含量测定,结果青蒿素含量为零,表明采用氯仿分4次提取,能达到提取完全的结果。

致谢:上海医科大学药学系马远鸣教授对本实验指导。

参 考 文 献

- | | |
|--------------------------------|-------------------------------|
| 1 刘静明,等。化学学报, 1979, 37(2): 129 | 4 沈旋坤。药物分析杂志, 1983, 3(1): 24 |
| 2 奚念朱,主编。药剂学。1980, 146 | 5 赵世善,等。药物分析杂志, 1986, 6(1): 1 |
| 3 曾美怡。药物分析杂志, 1981, 4(6): 327 | (1993-08-09收稿) |

Quantitative Determination of Arteannuin in Liposomes and Dextrans

by TLC-Scanning Method

Cai Meiming

TLC-scanning method for the quantitative determination of arteannuin in liposomes and dextrans was developed. The method is simple, accurate and sensitive. The recoveries were found to be 98.0% and 96.8%.

(Original article on page 353)

Determination of Psoralen and Isopsoralen in Malaytea Scurfpea

(*Psoralea corytifolia*) and Chinese Traditional Patent Medicine by HPLC

Liu Songqin, Ma Weaxiu, Tang Xianzhe, et al

A HPLC method was established for the determination of psoralen and isopsoralen in *Psoralea corytifolia* L. and its preparations. Psoralen and isopsoralen can be separated on μ -Bondapak C₁₈ column with a mobile phase of MeOH-H₂O (6:4) and detected at 245nm. The optimum conditions based on experimental results was to extract the sample by MeOH in an ultrasonicator for 30 min. The method is simple and accurate.

(Original article on page 355)

Oxymatrine's Effects on Lymphocyte's Proliferation

Wang Huixian, Zhang Linghua, Du Shouying, et al

Oxymatrine is an alkaloid from Traditional Chinese Medicine, *Sophora flavescens* Ait. which has many pharmacological effects. We studied the effects of oxymatrine on the proliferation of human tonsillar cells and mouse splenocytes with or without mitogens. The results show that, oxymatrine can augment the proliferation of the human tonsillar cells which show low PHA & tSAC response capacity. On the other hand, oxymatrine can inhibit the proliferation of the human tonsillar cells which show high PHA & SAC responses capacity. The effects of oxymatrine on mouse splenocytes are the same with the latter.

(Original article on page 362)

Protective Effects of Sophoramine on Acute Myocardial Infarction and Reperfusion Injury in Conscious Rats

Jin Ying, Wang Xiaodong, et al

The effects of sophoramine (SA) on myocardial infarction size and ischemia-induced and reperfusion-induced arrhythmia were studied in conscious rats. It was found that pretreatment with SA 13.3 and 15 mg/kg iv reduced significantly infarct size and cardiac LDH release at 6 h after left descending coronary artery ligation as compared with the control. SA 10.6, 13.3 and 15 mg/kg iv decreased markedly the early ischemic arrhythmia in conscious rats. Amiodarone 7.5mg·kg⁻¹ had the same effects on the prevention of ischemic arrhythmia. In reperfusion experiment, it decreased the incidence of ventricular fibrillation and significantly shortened the duration of arrhythmias. These results suggest that SA has protective effects on myocardial ischemia and reperfusion injury.

(Original article on page 364)