

状的重要指标,血BUN、Scr是肾功能的重要指标^[11]。在本实验中,氢化可的松导致小鼠血清ACTH和Cor显著降低,小鼠出现明显的阳虚症状;而北冬虫夏草菌丝体醇提物可明显提高ACTH水平,对Cor水平也有明显的恢复、调节作用,小鼠肾阳虚症状明显改善。腺苷类物质如虫草素等具有促进肾上腺素分泌,调节肾上腺功能的作用^[12]。本实验中北冬虫夏草菌丝体醇提物主要成分为虫草素和虫草酸等核苷类物质,这可能是其减轻阳虚症状的重要物质基础。此外,北冬虫夏草菌丝体醇提物和参仙壮肾胶囊可使氢化可的松诱导的阳虚模型小鼠的体质量、肾脏系数、血BUN、Scr水平与正常组基本一致,使小鼠的肾脏病理损害也明显改善。综上所述,北冬虫夏草菌丝体醇提物对氢化可的松引起的肾功能损伤具有保护作用。

参考文献

- [1] 庄乙君,陈文.冬虫夏草菌丝体干粉制剂对急性肾小管坏死治疗的影响[J].中国中西医结合肾病杂志,2003,4(5):292-293.

- [2] 赵学智,黎磊石.冬虫夏草对环孢素A急性肾毒性保护作用的实验研究[J].中华肾脏病杂志,1995,11(1):23-25.
- [3] 程宏霞,田红伟,展筱林.冬虫夏草药理作用研究进展[J].中医药导报,2005,11(10):86-87.
- [4] 刘东泽,陈伟,高新华,等.虫草菌素(3'-脱氧腺苷)研究进展(综述)[J].上海农业学报,2004,2(2):89-93.
- [5] 张念志,干静云,张一萌.参七虫草胶囊对慢性阻塞性肺疾病模型大鼠肺功能的影响[J].中国中医急诊,2006,15(9):1007-1008.
- [6] 皋聪,王传社,巫冠中.苁蓉总苷对氢化可的松致肾阳虚小鼠学习记忆功能的影响[J].中国中医基础医学杂志,2005,11(5):330-332.
- [7] 李广曦.肾阳虚证动物模型的造模方法及其相关指标回顾[J].中国中医基础医学杂志,2000,6(4):46-54.
- [8] 王普京,严智强.氢化可的松动物模型的病理组织学观察及其中药的反证与治疗[J].中国中医基础医学杂志,1999,5(10):41-42.
- [9] 杨裕华,李震.肾阳虚动物模型及其诊断指标研究近况[J].辽宁中医药大学学报,2007,9(5):40-42.
- [10] 王镜岩,朱圣庚,徐长法.生物化学[M].第三版.北京:高等教育出版社,2002.
- [11] 何立群,郑平东,王琛,等.百令胶囊治疗慢性肾衰的动物实验研究[J].上海医院药学,1998,9(2):11-14.
- [12] 李婧,姜汉英.虫草素的体内代谢特点及药理作用[J].国外医学:中医中药分册,2005,27(5):283-285.

(收稿日期 2009-02-18)

青蒿素贴剂的制备研究

王乃婕,邱琳,杜丰,梁秉文,叶祖光*

(北京中研同仁堂医药研发有限公司,北京 100075)

摘要:目的 通过对分散剂、压敏胶、促渗剂的筛选,研究分散型青蒿素贴剂的处方工艺。方法 以成型性为考察指标,筛选分散剂、压敏胶,采用TK-6A型透皮扩散仪,以SD大鼠腹部皮肤为透皮屏障,以透皮速率为考察指标,筛选最佳促渗剂。结果 青蒿素在PEG400中分散较好,在罗门哈斯压敏胶中成型较好,各促渗剂对青蒿素促渗作用大小依次为:油酸+氮酮>丙二醇>油酸>氮酮。结论 PEG400、罗门哈斯压敏胶、油酸+氮酮分别作为分散型青蒿素贴剂的分散剂、压敏胶、促渗剂。

关键词:青蒿素;分散剂;压敏胶;促渗剂

中图分类号:R283.69

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)03-0163-04

青蒿素是一种迅速控制疟疾症状的抗疟药^[1,2],临床上对间日疟、一般恶性疟及抗氯喹地区恶性疟均有效,具有退热快、原虫转阴时间短的特点,尤其适于抢救凶险型疟疾。但青蒿素存在半衰期短、疟原虫易复燃等缺点。为了克服青蒿素半衰期短的缺点,笔者将其制备成经皮给药制剂,利用经皮给药制剂可避免肝脏的首过效应和胃肠道的破坏,维持较长的作用时间,减少给药次数,延长给药时间,维持恒定的有效血药浓度,降低药物毒性和副

作用,提高疗效,可在减少给药剂量的同时,大大降低疟原虫复燃率。通过体外透皮试验对分散型青蒿素贴剂的处方工艺进行了研究,为青蒿素贴剂的新药开发提供了参考。

1 仪器与试药

仪器:Waters高效液相色谱仪;工作站:2695-2996版;泵:Waters2695四元泵;检测器:Waters2996紫外检测器;透皮扩散仪TK-20A,上海镑凯科技贸易有限公司电子天平;美国Mettler To-

* 通讯作者 叶祖光 E-mail:yezuguang@vip.sina.com

ledo AB135-S;试剂:甲醇为色谱纯,水为自制超纯水,其他试剂均为分析纯;青蒿素对照品:批号100202-200402,购于中国药品生物制品检定所。

2 方法与结果

2.1 皮肤的处理

SD大鼠(雄性,180~200 g),购自北京大学医学部实验动物科学部,动物合格证号:SCXK(京)2006-0008。处死后用电动剃毛器将其脱毛,取腹部皮肤。剥离脂肪层,用蒸馏水冲洗后备用。

2.2 体外透皮试验

2.2.1 体外透皮试验条件

采用立式 Franz 扩散池(体积:6 mL,扩散面积:2.92 cm²);水浴温度:(37±1)℃;转速400 r/min。将预处理皮肤置于扩散室与接受室之间(角质层面向扩散室),在角质层表面贴上药贴,固定好。在接收室中加入40% PEG400 约6 mL,液面恰与皮肤内层接触,在设定的时间(2、4、6、8、24 h)取样,每次取完,补充相同体积的新鲜接收液^[3-4]。

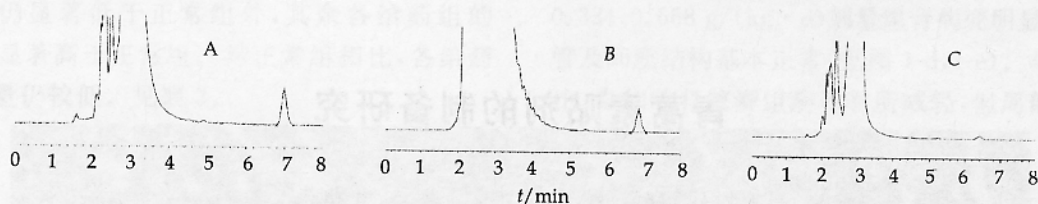


图1 青蒿素对照品(A)、青蒿素供试品(B)和阴性对照品(C)的HPLC图

精密称取青蒿素对照品10 mg,置10 mL量瓶中,加乙醇至刻度,摇匀。精密吸取上述青蒿素对照品溶液1.0 mL,置25 mL量瓶中,加40%PEG400至刻度,摇匀,分别精密吸取此溶液0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.8、1.0 mL于10 mL量瓶中,补充40%PEG400至5.0 mL。加2.0 mL 0.2%氢氧化钠溶液摇匀,于50℃水浴中反应30 min。冷却至室温,加0.19 mol/L冰醋酸至刻度,摇匀,过微孔滤膜,分别吸取20 μL进样,按上述色谱条件测定,以青蒿素的质量为横坐标(X),相应峰面积积分值为纵坐标(Y),计算回归方程为: $Y = 1\,024.3 X + 1\,362.5$, $r = 0.999\,4$,青蒿素在8~80 ng与峰面积呈良好的线性关系。

2.2.6 精密度试验

精密吸取供试品溶液20 μL,注入液相色谱仪,测定青蒿素峰面积值,并重复进样6次。结果RSD为1.58%。

2.2.7 稳定性试验

2.2.2 色谱条件^[5-6]

色谱柱:Kromasil[®] C₁₈柱(250 mm×4 mm,5 μm);流动相:甲醇-磷酸盐缓冲液(0.01 mol/L Na₂HPO₄-NaH₂PO₄)(60:40);体积流量:1.0 mL/min;检测波长:260 nm;柱温:30℃。

2.2.3 供试品溶液的制备

取接收液5.0 mL置10 mL量瓶中,加2.0 mL 0.56%氢氧化钠溶液摇匀,于50℃水浴中反应30 min,取出,放冷,加0.19 mol/L冰醋酸至刻度,摇匀,过微孔滤膜,即得。

2.2.4 阴性对照试验

在选定的色谱条件下,取不含青蒿素的空白贴片按照“2.2.1”项下条件进行试验,得阴性对照接收液,按照“2.2.3”项下方法制备阴性对照液,进样。结果表明,阴性对照液在青蒿素色谱峰位置处无相应峰出现。在此条件下青蒿素与其他成分能达到基线分离。色谱图见图1。

2.2.5 线性关系考察

取同一供试品溶液分别于0、4、8、12、24 h进样测定。结果表明,样品供试液在24 h内稳定。

2.2.8 回收率试验

分别吸取青蒿素对照品溶液(56.62 μg/mL)0.2、0.5、0.8 mL各3份,置10 mL量瓶,用阴性对照接收液补足至5.0 mL,按供试品溶液制备方法制备,进样测定,计算回收率,9份平均回收率为102.59%,RSD=5.53%,本法回收率符合规定。

2.3 分散剂的筛选

青蒿素临床用量较大(临床口服用量为2.8 g/5 d),根据压敏胶的性质,要制成1贴持续使用5 d,青蒿素用量远远大于压敏胶的载药量,故考虑将其制成分散型(过饱和)贴剂,如将青蒿素直接加入到压敏胶中,其很难分散均匀,故考虑先加入一定量的分散剂将其分散成膏状再加入至压敏胶中混合均匀。因此笔者分别对PEG400、甘油、丙二醇3种分散剂进行筛选,结果表明,3种分散剂的分散效果分别为好、一般、不理想,故确定使用PEG400作为分散剂。

2.4 压敏胶的筛选

根据压敏胶的性质,丙烯酸酯压敏胶的载药量较聚异丁烯类和硅酮类高,因此,分别考察了国民淀粉、罗门哈斯和江门3家公司生产的丙烯酸酯类压敏胶,并进行筛选。由于压敏胶载药量及对不挥发性溶剂的载量有限,考察药物对制剂成型的影响,结果表明,青蒿素在罗门哈斯压敏胶中成型较好,而对其他两种压敏胶的性质有影响,故选择罗门哈斯压敏胶作为贴剂基质,结果见表1。

表1 压敏胶筛选试验结果

试验号	青蒿素/ mg	不同厂家的压敏胶/g			成型性
		国民淀粉	罗门哈斯	江门	
1	300	4			影响压敏胶性质
2	400	4			影响压敏胶性质
3	500	4			影响压敏胶性质
4	300		4		易析出结晶
5	400		4		好
6	500		4		好
7	300			4	影响压敏胶性质
8	400			4	影响压敏胶性质
9	500			4	影响压敏胶性质

2.5 促渗剂的筛选^[7]

目前文献报道的常用促渗剂有氮酮(Azone)、丙二醇(PG)、油酸(OA)等,将促渗剂分别对其不同剂量单独使用对青蒿素透皮促进作用进行比较,结果见表2。

表2 3种促渗剂单独使用透皮试验结果

促渗剂种类 及用量	24 h 累积透过量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{cm}^2$)	透皮速率/ ($\mu\text{g} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$)	促渗剂对制剂 成型的影响
空白	44.42	1.85	不影响制剂成型
1% Azone	41.79	1.73	不影响制剂成型
3% Azone	61.96	2.50	不影响制剂成型
5% Azone	64.60	2.70	不影响制剂成型
7% Azone	83.54	3.50	不影响制剂成型
1% PG	107.08	4.50	黏度下降,有油状物析出
3% PG	102.40	4.20	黏度下降,有油状物析出
5% PG	100.83	4.20	黏度下降,有油状物析出
7% PG	109.73	4.63	黏度下降,有油状物析出
1% OA	96.83	3.84	不影响制剂成型
3% OA	76.09	3.16	不影响制剂成型
5% OA	65.76	2.71	不影响制剂成型
7% OA	69.39	2.83	不影响制剂成型

由上表可见,PG对青蒿素促渗效果最好,OA其次,Azone最差,但由于PG的加入影响制剂成型,压敏胶黏度下降,且表面有油状物析出。由于促渗剂加入总量超过8%,将影响制剂成型,故选择将OA、Azone配合使用,总量控制在8%以内,确定最佳配比,结果见表3。

表3 Azone、OA配合使用透皮试验结果

Azone 加入 量/%	OA 加入 量/%	24 h 累积透过 量/($\mu\text{g} \cdot \text{cm}^2$)	透皮速率/ ($\mu\text{g} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$)
3	1	92.19	3.81
5	1	120.26	5.07
7	1	137.96	5.78
3	3	91.47	3.86
5	3	100.07	4.24
3	5	152.90	6.49

由上表可见,Azone-OA为3%:5%时,对青蒿素促渗效果最好。

2.6 青蒿素贴剂体外透皮试验验证

2.6.1 青蒿素贴剂制备

将青蒿素分散于PEG400中,加入油酸、氮酮、压敏胶混合均匀,涂布,干燥,即得。

2.6.2 体外透皮试验

将上述2种青蒿素贴剂分别贴于处理好的大鼠腹部皮肤,置Franz扩散池,加入接收液,进行体外透皮试验(37℃,400 r/min),分别于2、4、6、8、24 h取样(将接收液全部取出,加入新的接收液),按照供试品溶液制备方法处理,测青蒿素,计算体外透皮速率,结果见表4,透皮速率曲线见图4。

表4 青蒿素贴片体外透皮速率结果(n=3)

贴片类型	24 h 累积透过量/ ($\text{mg} \cdot \text{cm}^2$)	透皮速率/ ($\mu\text{g} \cdot \text{cm}^2 \cdot \text{h}^{-1}$)	透皮速率曲线
分散型	0.154	6.56	$Y=6.5553 X-5.2943$ $r=0.9985$

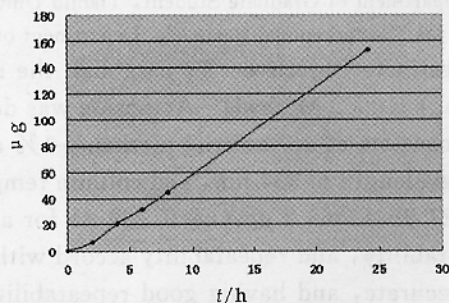


图4 青蒿素贴片体外透皮速率曲线

3 讨论

贴剂一般载药量较小,只适合于活性高,用量少的药物,本实验针对临床用剂剂量较高的青蒿素贴剂进行了研究,对青蒿素采用超微粉碎,并用PEG400润湿分散青蒿素,使青蒿素稳定均一地分散在压敏胶中,提高了青蒿素压敏胶载药量,使得药物能长时间维持稳定的透皮速率,为临床剂量较高的药物经皮给药制剂的研究提供了新的思路。

各促渗剂对青蒿素促渗作用大小依次为:PG>

OA> Azone, Azone 的促渗作用呈浓度相关性。PG 的促渗效果不随浓度的升高而增强,处方中高浓度的 OA 反而会抑制青蒿素的透皮吸收。促渗剂配伍使用时,并不是每个促渗剂最佳配比的简单加和,而是需要通过试验筛选出最佳配比。

参考文献

- [1] 叶祖光. 青蒿素类抗疟药研究二十年[J]. 国外医学: 中医中药分册, 1995, 17(5): 3-7.
- [2] 杨耀芳. 青蒿素及其衍生物的药理作用和临床作用[J]. 中国临床药理学杂志, 2003, 12(4): 253-257.

- [3] 梁秉文. 经皮给药制剂[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1992.
- [4] 陆彬. 药物新剂型与新技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998.
- [5] 曾美怡, 赵世善. 青蒿素分析中的各种定量反应[J]. 药物分析杂志, 1986, 6(3): 183-185.
- [6] 汪文来. HPLC 法测定类风湿胶囊中青蒿素的含量[J]. 中国中医基础医学杂志, 2003, 9(12): 43-47.
- [7] 曾爱国, 程秀云, 王云彩, 等. 渗剂对盐酸小檗碱体外经皮渗透的影响[J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2004, 25(4): 359-365.

(收稿日期 2009-01-16)

HPLC 法测定独一味中类叶升麻苷

刘 婕¹, 许 浚², 张铁军^{2*}

(1. 天津中医药大学研究生部, 天津 300193; 2. 天津药物研究院 现代中药研究部, 天津 300193)

摘要:目的 建立藏药独一味中类叶升麻苷的测定方法。方法 采用 HPLC 法。色谱条件: Diamonsil C₁₈ 色谱柱(200 mm×4.6 mm, 5 μm); 以乙腈-甲醇-1%醋酸水溶液(10:15:75)为流动相; 体积流量为 1.0 mL/min; 柱温 35℃; 检测波长 334 nm。结果 类叶升麻苷在 0.227 2~1.363 2 μg 呈良好的线性关系, $r=0.999\ 2$, 加样回收率、精密度、稳定性和重现性试验结果均符合要求。结论 该方法专属性强、灵敏度高、精确度与重现性好, 适用于独一味中类叶升麻苷的测定。

关键词: 独一味; 类叶升麻苷; HPLC 法

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1674-5515(2009)03-0166-03

Determination of acteoside in *Lamiophlomis rotata* by HPLC

Liu Jie¹, Xu Jun², Zhang Tie-jun²

(1. Department of Graduate Student, Tianjin University of Chinese Medicine, Tianjin 300193, China; 2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Department of Traditional Medicine Modern Research, Tianjin 300193, China)

Abstract: **Objective** To establish the method for determination of acteoside in *Lamiophlomis rotata* (Benth.) Kudo. **Methods** Acteoside was determined by the HPLC with Diamonsil C₁₈ column, the mobile phase consisted of acetonitrile-methanol-1% acetic acid(10:15:75), flow rate of 1.0 mL/min, UV detection wavelength of 334 nm, and column temperature of 35℃. **Results** This method was linear over ranges of 0.227 2~1.363 2 μg ($r=0.999\ 2$) for acteoside. The results of tests for the average recovery, precision, stability, and repeatability accord with the requirements. **Conclusion** This method is special, sensitive, accurate, and having good repeatability, and can be used for the quality analysis of phenylethanoid glycosides in *L. rotata*.

Key words: *Lamiophlomis rotata* (Benth.) Kudo; acteoside; HPLC

独一味为唇形科独一味属植物独一味 *Lamiophlomis rotata* (Benth.) Kudo 的干燥全草, 是藏族习用药材, 性味甘、苦、平, 具有活血止血、祛风止痛等功效, 用于跌打损伤、外伤出血、风湿痹痛、黄水病等^[1]。独一味主要含黄酮类、环烯醚萜类、苯乙醇苷

类等成分^[2-4], 其中苯乙醇苷类化合物具有抗炎、抑菌、抗病毒等活性^[5]以及抑制血小板凝集^[6]等作用, 为独一味中有效成分, 且在独一味药材中的量较多。《中国药典》以水解黄酮苷类成分为标示物, 测定木犀草素的量, 以此作为独一味药材的质量评价指