

磷脂双分子层缓慢释放,发挥了药物贮库作用,有利于提高肺部给药药物的生物利用度。

致谢:陈道峰教授提供三七总皂苷原料药。许清芳博士提供有关 P N S 前期研究的宝贵资料。

References

- [1] Yuan H L, Chen K L. Survey of *Panax notoginseng* [J]. *Jiangxi J Chin Tradit Med* (江西中医药), 1996 (Suppl): 160-162.
- [2] Ma W G, Mizutani M, Malterud K E, et al. Saponins from the roots of *Panax notoginseng* [J]. *Phytochemistry*, 1999, 52: 1133-1139.
- [3] Zhao X X. *Studies of Chinese Herbal Injections* (中药注射剂学) [M]. Guangzhou: Guangdong Science and Technology Publishing House, 2000.
- [4] Wang W Z, Deng Y Z. A survey of studies on pulmonary delivery of liposomes [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2000, 17(3): 226-229.
- [5] Xu Q F, Fang X L, Chen D F. Pharmacokinetics and bioavailability of ginsenoside Rb1 and Rg1 from *Panax notoginseng* in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2003, 84: 187-192.
- [6] Arppe J, Vidgren M, Waldrep J C. Pulmonary pharmacokinetics of cyclosporine A liposomes [J]. *Int J Pharm*, 1998, 161: 205-214.
- [7] Ping Q N. *Modern Pharmaceutics* (现代药剂学) [M]. Beijing: China Medico-Pharmaceutical Science and Technology Publishing House, 1998.
- [8] Marisanna S, Mika T V, Matti O K. Pulmonary distribution and clearance of two beclomethasone liposome formulations in healthy volunteers [J]. *Int J Pharm*, 1999, 181: 1-9.
- [9] Deol P, Khuller G K. Lung specific stealth liposomes: stability, biodistribution and toxicity of liposomal anti-tubercular drugs in mice [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1997, 1334: 161-172.
- [10] Jiang Z Q, Yang J F, Lin W Y. Stabilities of liposomes [J]. *Strait Pharm J* (海峡药学), 2000, 12(1): 6-9.
- [11] Kreuter J. *Colloidal Drug Delivery Systems* [M]. New York: Marcel Dekker Inc, 1994.
- [12] Han G Z. *Chinese Traditional and Herbal Drugs Pharmacokinetics* (中草药药代动力学) [M]. Beijing: China Medico-Pharmaceutical Science and Technology Publishing House, 1999.

葛根芩连汤的 HPCE 指纹图谱研究

戴开金¹, 罗奇志², 罗佳波³, 马安德², 谭晓梅³, 吴昭晖^{3*}

(1. 第一军医大学 化学教研室, 广东 广州 510515; 2. 第一军医大学 中心实验室, 广东 广州 510515;
3. 第一军医大学 中药制剂重点实验室, 广东 广州 510515)

摘要:目的 采用高效毛细管电泳法(HPCE)建立葛根芩连汤的指纹图谱。方法 电解质溶液由 30 mmol/L 磷酸盐和 40 mmol/L 硼酸盐组成, 未涂层融硅毛细管(65 cm × 50 μm, 有效长度 43 cm), 分离电压 22 kV, 进样 1 s, 检测波长 254 nm, 温度 30 ℃。结果 上述条件下, 葛根芩连汤中 27 个成分得到了较好的分离, 方法学考察结果符合定量测定和定性研究的要求。结论 该方法具有较好的分离效果和良好的精密度, 可考虑作为葛根芩连制剂的质量控制方法。

关键词: 葛根芩连汤; 高效毛细管电泳; 指纹图谱

中图分类号: R 283. 2; R 286. 02

文献标识码: A

文章编号: 0253 - 2670(2004)07 - 0749 - 03

HPCE fingerprinting of Gegen Qinlian Decoction

DAI Kai-jin¹, LUO Qi-zhi², LUO Jia-bo³, MA An-de², TAN Xiao-mei³, WU Zhao-hui³,

(1. Chemistry Department; 2. Center Laboratory; 3. Pharmaceutical Laboratory of Traditional Chinese Medicine, the First Military Medical University, Guangzhou 510515, China)

Abstract: **Object** To study the HPCE fingerprinting of Gegen Qinlian Decoction (GQD). **Methods** A buffer was composed of 30 mmol/L sodium phosphate and 40 mmol/L borate solution. Capillary electrophoresis was performed using a 65 cm (43 cm to detector) × 50 μm fused-silica capillary tube. Separation voltage was 22 kV, sampling time was 1 s, detected wavelength was 254 nm, and the temperature was maintained at 30 ℃. **Results** The 27 components in GQD were successfully separated. The observation of methodology was in keeping with quantitative determination and qualitative study. **Conclusion** This method can be used for the quality control of the preparation of GQD with good precision.

Key words: Gegen Qinlian Decoction (GQD); high-performance capillary electrophoresis (HPCE);

* 收稿日期: 2003-10-21

基金项目: 国家自然科学基金重点资助项目(39970886); 广东省自然科学基金资助项目(001070)

作者简介: 戴开金(1973—), 男, 湖南武冈人, 助教, 中药学硕士, 主要从事中草药的提取分离研究。

fingerprinting

葛根芩连汤由葛根、黄连、黄芩、甘草 4 味药组成,出自《伤寒论·太阳篇》,有解表清里、升清止利之功。文献报道该方在配伍合煎的过程中产生了沉淀,并有可能导致有效成分发生质和量的变化^[1~3]。本实验试图通过制定该方的指纹图谱,为较深入和准确的研究该方有效成分的变化提供分析手段,同时为制定该方的中成药质量标准提供可行的方法。

1 仪器与试药

270A—HT 型高效毛细管电泳仪 (Applied Biosystems 公司),未涂层融硅毛细管(河北永年锐沣色谱器件有限公司),HW—2000 色谱工作站数据处理系统(南京千谱软件有限公司),Millipore-Q 纯水器。

甲醇为色谱纯,其他试剂为国产分析纯;盐酸小檗碱、葛根素、黄芩苷对照品均购于中国药品生物制品检定所(含量测定用,批号分别为 0713-9906,753-200007,715-200010);葛根、黄芩、黄连、甘草药材由广东省药材公司提供,经本校中药鉴定教研室刘传明讲师鉴定,分别为豆科植物野葛 *Pueraria lobata* Ohwi,唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 干燥根茎,毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch 干燥根茎,豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch 干燥根茎(经蜜制)。

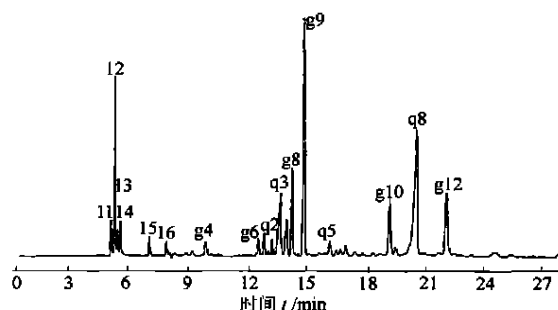
2 方法和结果

2.1 供试品溶液的制备:按处方配比(葛根 15 g、黄芩 9 g、黄连 9 g、甘草 6 g)取葛根芩连汤各味药饮片,加水 400 mL 浸泡 15 min,先煎葛根 20 min,余药共煎 30 min,煎两次,合并滤液,定容至 1 000 mL,取 4 mL,定量加甲醇 6 mL,超声 10 min,离心,定容至 10 mL,作为供试品溶液。黄连、葛根、黄芩、甘草药材及缺黄连、葛根、黄芩、甘草阴性溶液同法制备。

2.2 电泳条件:电解质溶液由 30 mmol/L 磷酸盐和 40 mmol/L 硼酸盐组成,未涂层融硅毛细管(65 cm × 5 μm,有效长度 43 cm),分离电压 22 kV,进样 1 s,检测波长 254 nm,温度 30 °C。样品依次进样电泳。全方 HPCE 分离图见图 1。

2.3 方法学考察

2.3.1 精密度试验:取全方供试品溶液 1 份,连续进样 5 次,测得主要峰相对迁移时间和单峰面积,结果表明黄连 6 个峰(命名为 11~16)、葛根 12 个峰(命名为 ~)、黄芩 个峰(命名为 ~)、甘



黄连-11~16 葛根-g1~g12 黄芩-q1~q8
Rhizoma Coptidis-11~16 Radix Puerariae-g1~g12
Radix Scutellariae-q1~q8

图 1 葛根芩连汤全方 HPCE 分离图

Fig 1 HPCE chromatogram of GQD

草 1 个峰迁移时间相对恒定。黄连 5 个峰(分别为峰 11、12、13、14、15、16)、葛根 6 个峰(分别为峰 q2、q3、q4、q5、q8)、黄芩 5 个峰(分别为 g4、g6、g8、g9、g10、g12)峰面积相对恒定, RSD < 5%。

2.3.2 稳定性试验:取全方供试品溶液 1 份,分别在 0、4、8、12、24 h 进样,测得主要共有峰迁移时间和峰面积,表明黄连 6 个峰、葛根 12 个峰、黄芩 8 个峰、甘草 1 个峰迁移时间相对恒定,并且 RSD < 5%。黄连 5 个峰、葛根 6 个峰、黄芩 5 个峰峰面积相对恒定, RSD < 5%。

2.3.3 重现性试验:按处方配比取全方药材饮片 5 份,照 2.1 项下方法,制成供试品溶液,依次进样分析,测得主要峰相对迁移时间和峰面积。结果表明黄连 6 个峰、葛根 12 个峰、黄芩 8 个峰、甘草 1 个峰迁移时间相对恒定,黄连 5 个峰、葛根 6 个峰、黄芩 5 个峰峰面积相对恒定, RSD < 5%。

2.4 指纹图谱技术参数^[10]:根据 10 批葛根、黄芩、黄连、甘草药材供试品溶液 HPCE 谱给出的相关参数,比较供试品谱图,其中黄连 6 个峰,黄芩 8 个峰,葛根 12 个峰,甘草 1 个峰是各批供试品所共有的,因此确定这 27 个峰为共有指纹峰,其中黄连 5 个峰、葛根 6 个峰、黄芩 5 个峰峰面积相对恒定, RSD < 5%,可以定量。其余各共有峰均按其相对迁移时间定性。

3 结果及讨论

3.1 供试品溶液制备方法的考察:取样品离心后的沉淀物,用 10 mL 甲醇超声 30 min,以甲醇为对照,在 230~800 nm 扫描,各波长的紫外吸收均小于 0.05 因此认为上述处理方法没有造成成分损失,方

法可行。

3.2 全方各峰的归属分别经各药材、阴性及对照品对照确认,其中12为小檗碱,g9为葛根素,q8为黄芩苷,甘草虽然产生3个峰,但由于在方中甘草的量较少,受到的干扰相对较大,出峰时间的相对稳定性较差,只有一个峰的相对迁移时间的RSD<5%,但如果把RSD放宽至10%,则3个峰相对迁移时间皆可用于定性。

3.3 方法学考察表明该法可用于葛根芩连方指纹图谱的建立,其中黄连、黄芩分别有5个峰可以定量;葛根有6个峰可以定量,其他11个成分可用相对迁移时间定性。

3.4 葛根芩连汤中成分复杂,含有多种生物碱、黄酮类、皂苷类成分,采用高效液相色谱法,即使采用梯度洗脱也很难在一个色谱柱上使各类成分得到较好的分离,高效毛细管电泳的原理是利用成分在电压的驱动下,在电解质溶液中淌度的不同而得到分离,分离的效率高,各类物质都可以得到较好的分离,分析时间短,样品的处理比较简单,体现其在中药分析特别是中药复方的分析中的优势。

本法可为葛根芩连方及其他含葛根、黄芩、黄连的方剂物质基础及配伍规律研究提供分析方法;可为黄连药材、葛根药材、黄芩药材及葛根芩连制剂质量标准及其他含葛根、黄芩、黄连复方制订指纹图谱的建立提供参考。

References

- [1] Dai K J, Luo J B, Tan X M, *et al* Influence of various compatibility on puerarin content in Gegen Q inlian Decoction [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(6): 506-508.
- [2] Tan X M, Dai K J, Luo J B, *et al* Influence of compatibility on content of baicalin in Gegen Q inlian Decoction [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(7): 598-600.
- [3] Dai K J, Luo J B, Wu Z H, *et al* Influence of compatibility on glycyrrhizic acid in Gegen Q inlian Decoction [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(12): 1084-1087.
- [4] Liu Y M, Shuenn-Jyi S. Determination of quaternary alkaloids from *Coptidis Rhizoma* by capillary electrophoresis [J]. *J Chromatogr A*, 1992, 623: 196-199.
- [5] Liu Y M, Shuenn-Jyi S. Determination of coptisine, berberine and palmatine in traditional Chinese medicinal preparations by capillary electrophoresis [J]. *J Chromatogr A*, 1993, 639: 323-327.
- [6] Zhou H L, Wei L X, Yang D H. Determination of alkaloids in coptis-cinnamomum compatibility by capillary electrophoresis [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1999, 24(5): 308-310.
- [7] Sun L H, Hu Y M, Zou D L, *et al* Determination of puerarin in *Radix Puerariae* and Naodesheng Tablets by HPCE [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2000, 35(10): 694-696.
- [8] Zhang G H, Wang Y Z, Zhang Y Y. Determination of *Protoberberinium* alkaloids in *Coptidis Rhizoma* and traditional Chinese pharmaceutical preparations by high performance capillary electrophoresis (HPCE) [J]. *Chin J Chromatogr* (色谱), 1995, 13(4): 247-249.
- [9] Han F M, Cheng Z Y, Yang X, *et al* Determination of baicalin in *Radix Scutellariae* preparation by high performance capillary electrophoresis [J]. *Chin J Chromatogr* (色谱), 2000, 18(3): 280-282.
- [10] Xie P S. On the feasibility of application of chromatographic fingerprint identification to herbal medication [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2000, 22(6): 391-394.

蚕砂中叶绿素类金属配合物清除活性氧作用研究

冯清¹, 刘莉¹, 罗丰¹, 孙获娜¹, 李早英^{*}

(1. 华中科技大学同济医学院 医学化学系, 湖北 武汉 430030; 2. 武汉大学生命科学院, 湖北 武汉 430072)

摘要:目的 研究蚕砂中提取、精制叶绿素类金属配合物[Fe²⁺ (I)、Cu²⁺ (II)、Mn²⁺ (III)、Co²⁺ (IV)]作为抗活性氧(O₂⁻、H₂O₂、OH·)模拟酶。方法 核黄素—蛋氨酸光照测其清除O₂⁻作用, H₂O₂氧化维生素C法测其催化H₂O₂的分解, Fenton-苯甲酸荧光法测其对OH·清除作用, 小鼠肝匀浆法测其抗脂质过氧化作用。结果 1×10⁻⁵~1×10⁻⁶ mol/L具有良好的清除O₂⁻作用, 活性顺序为: Cu²⁺>Mn²⁺>Co²⁺>Fe²⁺; 约1×10⁻⁷ mol/L具有分解H₂O₂作用, 活性顺序为: Cu²⁺>Mn²⁺>Fe²⁺>Co²⁺; 约1×10⁻⁸ mol/L具有清除OH·的功能, 活性顺序为: Cu²⁺>Co²⁺>Fe²⁺>Mn²⁺; 约1×10⁻⁸ mol/L可使脂质过氧化产物明显减少, 活性顺序为: Cu²⁺>Co²⁺>Mn²⁺>Fe²⁺。结论 蚕砂中叶绿素类金属配合物可作为抗多种活性氧(O₂⁻、H₂O₂、OH·)模拟酶。

关键词: 蚕砂; 叶绿素类金属配合物; 抗活性氧; 脂质过氧化

中图分类号: R286.02; R286.07

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)07-0751-04