

溶出度试验中由于投药量超过了饱和溶解度,因此SD在介质中溶散时形成的是分子、胶体和细小颗粒组成的混合液,因而呈现浑浊状态。从溶出度考察结果可知,分散(包括溶解)在溶出液中的小于 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 的药物可达50%以上,而配比为五仁醇-PVP K30 SD (1:3)分散(包括溶解)在溶出液中的小于 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 的药物可高达43.2%。这种高度分散的药物具有非常大的比表面积,从而将大大提高药物的体外溶出度和生物利用度。

一般来说,载体比例高的SD比载体比例低的SD更容易提高药物的溶解度和溶出度。但也有例外,如Piroxicam/PVP SD,只有在1:4的比例时才会达到最高的释放速度^[5]。本实验的结果就出现了类似情况,溶出度最高的药物/载体比例不是出现在1:6而是出现在1:3。

PVP K30本身具有很强的吸湿性(吸湿后由固体粉末变成黏稠的半固体状),但是五仁醇-PVP

K30 SD的吸湿性却相对有所降低,可能是由于它们形成的固体分散体的物理性质及五仁醇的相对疏水性造成的。

References:

- [1] Jia W, Qiu M F, Zhao T. Preparative method of solid dispersion of Chinese materia medica extracts [P]. CN: 200410084733.4, 2004-12-2.
- [2] Jiang Y C. Application of analysis to traditional Chinese medicines (TCM) preparations by modern chromatography-analytical studies on six TCM and two preparations [A]. *Dissertation of Doctor Degree of Chinese Pharmaceutical University* (中国药科大学博士学位论文) [D]. Nanjing: China Pharmaceutical University, 2003.
- [3] Hemant N J, Ravindra W T, Martha D, et al. Bioavailability enhancement of a poorly water-soluble drug by solid dispersion in polyethylene glycol-polysorbate 80 mixture [J]. *Int J Pharm*, 2004, 269: 251-258.
- [4] Dai Y Z, Lu Z F, Zeng J H, et al. Preparation and dissolution of Nimodipine polxamer solid dispersions [J]. *Chin J Pharm* (中国医药工业杂志), 1998, 29 (12): 550-551.
- [5] Christian L, Ennifer D. Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2000, 50: 47-60.

高效液相制备色谱制备一枝蒿酮酸对照品

马雁鸣^{1,2}, 赵芸^{1,2}, 吴韬¹, 斯拉甫³, 廖立新¹, 阿吉艾克拜尔·艾萨^{1*}

(1. 中国科学院新疆理化技术研究所, 新疆 乌鲁木齐 830011; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039; 3. 维吾尔医药研究所, 新疆 乌鲁木齐 830001)

摘要:目的 研究高效液相色谱制备一枝蒿酮酸对照品的办法。方法 原料用95%乙醇提取,浓缩成浸膏后用醋酸乙酯萃取。醋酸乙酯部位用100~200目硅胶柱色谱分离,用石油醚-醋酸乙酯(3:1)梯度洗脱,收集样品进行HPLC分离制备。结果 该法所得产品用HPLC归一化法定量,质量分数大于98%。结论 本方法简便,产品质量高,一枝蒿酮酸产品可用做分析方法的对照品。

关键词:新疆一枝蒿;一枝蒿酮酸;对照品;制备高效液相色谱

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2005)07-1002-03

Preparation of rupestonic acid reference substance by preparative HPLC

MA Yan-ming^{1,2}, ZHAO Yun^{1,2}, WU Tao¹, Sirapil³, LIAO Li-xin¹, Haji Akbar Aisha¹

(1. Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry, Chinese Academy of Science, Urumqi 830011, China;

2. Graduate School of Chinese Academy of Science, Beijing 100039, China;

3. Institute of Xinjiang Uyghur Medicine, Urumqi 830001, China)

Abstract: Objective To establish a preparative method for rupestonic acid reference substance from *Artemisia rupestris* by HPLC. **Methods** After raw material being extracted with 95% ethanol, the ethanol extracts were evaporated to dryness under reduced pressure. Then the dry powder was extracted by ethyl acetate, the ethyl acetate extract was fractionated by column chromatography on silica gel (100—200 mesh) using petroleumbenzine-ethyl acetate (3:1) as the eluent. The collected fraction was purified by preparative HPLC. **Results** The purity of the product quantitated by normality was over 98%. **Conclusion** The developed method is simple and rapid and the product of rupestonic acid can be used as

收稿日期:2004-09-01

作者简介:马雁鸣(1978—),女,满族,辽宁人,在读硕士,主要从事中药和民族药的研究与开发。

*通讯作者 阿吉艾克拜尔·艾萨 Tel: (0991) 3835679 E-mail: haji@ms.xjb.ac.cn Fax: (0991) 3838957

reference substance.

Key words: *Artemisia rupestris* L.; rupestonic acid; reference substance; preparative HPLC

新疆一枝蒿 *Artemisia rupestris* L. 系菊科植物,产于新疆维吾尔自治区境内的天山及阿尔泰山山脉,是新疆民族药常用药材^[1],具有解毒、抗过敏^[2]、抗菌、抗病毒及保肝等功效,临床用于肝炎、感冒、咽炎、扁桃体炎、眼炎的治疗。一枝蒿中含有黄酮类、倍半萜类、氨基酸类、苷类、多糖类、挥发油、多肽、生物碱等^[3]。酮酸是一枝蒿主要有效成分之一。新疆药物研究所已对一枝蒿酮酸进行了分离及结构鉴定,采用常压硅胶柱色谱法^[1]。但目前尚未见用制备色谱对一枝蒿酮酸进行分离制备的报道。市场上更无一枝蒿酮酸对照品出售。因此为了对新疆一枝蒿药材及成药进行药物质量控制,本实验采用常规色谱和高效液相结合的方法制备一枝蒿酮酸对照品。该法简便易行,产品质量分数可达98%以上。

1 仪器与试剂

Dionex 半制备高效液相色谱仪, Dionex UVD170U/340U UV/VIS 检测器, Foxy Jr. 馏分收集器, 10 mL 定量环。Waters 2690 分析型高效液相色谱仪, 996PDA 检测器。R200 型旋转蒸发器 (BUCHI), Yanaco 熔点仪, 硅胶和硅胶板 (青岛海洋化工厂), 色谱纯甲醇、乙腈, 二次重蒸水, 其他试剂均为分析纯。新疆一枝蒿由中国科学院新疆生态地理研究所沈冠冕老师鉴定。

2 方法与结果

2.1 原料处理: 一枝蒿全草 10 kg, 粉碎, 95% 乙醇回流提取 3 次, 分别为 3、2、1 h。合并提取液, 减压浓缩成膏状, 以醋酸乙酯萃取 3 次, 萃取液浓缩, 取 50 g 拌硅胶上 100~200 目硅胶柱, 石油醚 (30~60 °C)-醋酸乙酯 (3:1) 洗脱, 洗脱下来的产品浓缩, 得到粗品 3.8 g。

2.2 色谱条件

2.2.1 半制备型 HPLC: YMC-Pack ODS-A 柱 (250 mm×20 mm, 5 μm); 柱温: 室温; 检测波长: 245 nm; 流动相: 甲醇-0.2% 甲酸水溶液 (65:35); 体积流量: 8.0 mL/min。

2.2.2 分析型 HPLC: YMC-Pack ODS-A 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 柱温: 室温; 检测波长: 210~400 nm; 流动相: 甲醇-0.2% 甲酸水溶液 (67:33); 体积流量: 1.0 mL/min。

2.2.3 对照品的制备: 取 1 g 粗品溶于甲醇溶液, 配制成 40 g/L 的溶液, 超声 30 min, 用半制备高效

液相色谱法纯化, 进样量为 1 mL, 收集保留时间为 18.5 min 的组分, 见图 1。将其减压浓缩 (60 °C 以下) 后置恒温干燥箱内干燥 24 h (40 °C), 最后得到无色棒状结晶 392 mg。

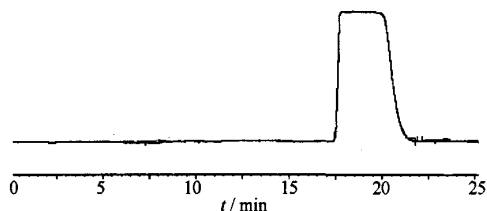


图1 一枝蒿酮酸制备高效液相色谱图

Fig. 1 Preparative HPLC chromatogram of rupestonic acid

2.3 样品的检测

2.3.1 熔点测定: 132~133 °C。

2.3.2 薄层色谱检测: 采用两种展开体系进行检测, 薄层板用硅胶 GF254 板。展开剂为石油醚-醋酸乙酯-醋酸 (20:10:1), R_f 为 0.45; 展开剂为正己烷-乙醚-醋酸 (5:10:1), R_f 为 0.61。254 nm 紫外光下见红色斑点, 无杂质点。

2.3.3 HPLC 检测: 产物经分析型高效液相色谱检测, 归一化法定量, 其质量分数大于 98%, 见图 2。

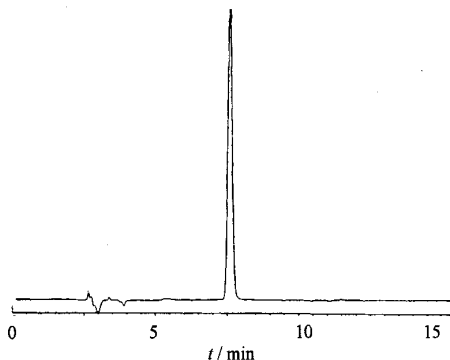


图2 一枝蒿酮酸对照品的高效液相色谱图

Fig. 2 HPLC chromatogram of rupestonic acid reference substance

2.4 结构鉴定: IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 3 200, 2 900, 1 704, 1 658, 1 616, 950. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO): δ 0.60 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-15', 15'', 15'''), 1.548 (3H, s, H-14', 14'', 14'''), 3.18 (2H, m, $J = 2.4, 2.0$ Hz, H-2', 2''), 2.066 (1H, m, $J = 2.8, 4.4, 3.6$ Hz, H-7), 3.714 (1H, s, H-13'), 6.109 (1H, s, H-13''). $^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz,

DMSO): δ 45.118 (C-1), 37.583 (C-2), 206.645 (C-3), 136.495 (C-4), 174.407 (C-5), 40.848 (C-6), 37.118 (C-7), 31.321 (C-8), 36.085 (C-9), 34.778 (C-10), 146.751 (C-11), 167.868 (C-12), 122.851 (C-13), 7.722 (C-14), 11.944 (C-15)。以上数据与文献报道^[4]的一枝蒿酮酸的氢谱和碳谱测定结果一致。

3 讨论

3.1 在进行高效液相制备色谱制备前,先把提取的样品通过硅胶柱色谱预处理,可以去除样品中大量的杂质,使酮酸的量进一步提高,防止对色谱柱污染。

3.2 单纯的柱色谱分离得到的粗品含有多种微量杂质,纯度达不到对照品的要求。而通过其他方法纯化比较繁琐,通过高效液相制备色谱的多个紫外波长的检测,方法操作方便,可使一枝蒿酮酸峰和杂质峰分开,进而使得对照品质量分数达到98%以上。

3.3 选用乙腈-水系统,酮酸保留时间过短,而且拖尾;选用未加酸的甲醇-水系统,除了保留时间过短外,主峰与杂质峰重叠现象严重。选用甲醇-0.2%甲酸水溶液,甲酸沸点与水相近,易与水一起蒸出,不会引起产品纯度降低^[5]。甲醇-0.2%甲酸水溶液(67:33)使主峰与杂质峰达到了基线分离。

3.4 原料经柱色谱分离后,尽管一枝蒿酮酸量大幅提升,但溶液中仍含有一些杂质,在进行高效液相制备色谱纯化时,杂质也同步进入制备柱中,并且在制

备流动相条件下无法完全被洗脱。这既影响柱寿命也影响下一次的分离效果。因此,必须在每次分离纯化后梯度冲洗制备柱,然后再用甲酸水溶液平衡色谱柱,进行下一次的分离纯化^[6]。

3.5 因为酮酸为首批标化的定量用对照品,所以选定了245、254、238、230 nm 4个检测波长。选用了乙腈-水(70:30)和甲酸-0.2%甲酸水溶液(67:33)两种溶剂系统做归一化测定,以几种测定方法结果的平均值作为测定结果。

3.6 本实验建立的制备一枝蒿酮酸对照品的方法,操作方便,重现性好,制备的产品纯度高,可用作分析的对品。

References:

- [1] Xu G S, Chen X Y, Yu D Q. The structure of a new sesquiterpene in *Artemisia rupestris* L. — rupestonic acid [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 1988, 23 (2): 122-125.
- [2] Chen X Y, Wang S H. Elementary studies on the effect of anti-hypersusceptibility of *Artemisia rupestris* L [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1981, 12 (4): 25-26.
- [3] Liu Y M, Yu D Q. Studies on the chemical components of *Artemisia rupestris* L [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 1985, 20 (7): 514-518.
- [4] Lei L, Song H Z, Tu P F, et al. Separation of echinacoside by reversed-phase preparative high performance liquid chromatography [J]. *Chin J Chromatogr* (色谱), 2001, 19 (3): 200-202.
- [5] Xiao W T, Zhu X L, Chen B, et al. Preparation and purification of theanine reference substance by preparative HPLC [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35 (2): 148-150.

清蒸与黑豆汁蒸何首乌中有效成分的比较

解奉江, 赵荣华*, 赵声兰, 饶高雄

(云南中医学院 中药系, 云南 昆明 650200)

摘要:目的 为制定何首乌合理的炮制工艺提供依据。方法 采用HPLC和分光光度计对清蒸和黑豆汁蒸何首乌中有效成分进行比较分析。结果 清蒸和黑豆汁蒸何首乌中蒽醌和二苯乙烯苷无显著性差别。结论 为简化炮制工艺用清蒸代替黑豆汁蒸是可行的。

关键词:何首乌;清蒸;黑豆汁蒸;蒽醌;二苯乙烯苷

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2005)07-1004-03

Comparison of active components in two processed products of *Polygonum multiflorum*

XIE Feng-jiang, ZHAO Rong-hua, ZHAO Sheng-lan, RAO Gao-xiong

(Department of Chinese Materia Medica, Yunnan College of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650200, China)

Abstract: Objective To provide basis for choosing a proper processed method of *Polygonum*

收稿日期:2004-09-07

基金项目:云南省中药现代化科技产业专项基金资助(2002ZY-11)

作者简介:解奉江(1979—),男,辽宁人,在读硕士,主要从事中药炮制方面的研究。

* 通讯作者 赵荣华 zharh@163.net Tel: (0871) 6212611