

用,《中国药典》2000年版二部已经正式收载了该方法。

一个新的中药品种是否可以采用细菌内毒素检查法,首先要证实该样品本身是否存在干扰因素,进行干扰试验的目的就是要确定该品种在什么样的有效稀释浓度范围内进行细菌内毒素检查时既可以克服干扰因素,又能客观地反映其所含内毒素的量是否符合规定的限值;本实验在确定注射用苦参素的细菌内毒素限值为1 000 EU/g后,应用2个厂家不同灵敏度的鲎试剂对3批注射用苦参素进行了细菌内毒素检查的干扰试验,动态浊度法定量试验及普通凝胶法鲎试验均证实样品在稀释至500 mg/L或

更低浓度时对细菌内毒素检查无干扰作用,说明可建立该品种的细菌内毒素检查法。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol I. 2005.
- [2] Liu J, McIntosh H, Lin H. Chinese medicinal herbs for chronic hepatitis B: a systematic review [J]. *Liver* (肝脏), 2001, 21 (4): 280-286.
- [3] Xiao G N, Ou X, Lu H W, et al. Study of tachypleus amebocyte lysate test for bacterial endotoxins in propafenone hydrochloride injection [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2004, 20 (2): 226-229.
- [4] Xiao G N, Wu Z D, Guan Y Y. Quantitative study of kinetic turbidimetric limulus test for bacterial endotoxins in cisplatin injection [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2003, 19 (4): 435-437.

六味地黄纳米颗粒的显微结构及丹皮酚的测定

马培艳^{1,2}, 傅正义¹, 张金咏¹, 王玉成¹, 王为民¹, 张清杰¹

(1. 武汉理工大学 材料复合新技术国家重点实验室, 湖北 武汉 430070;

2. 武汉理工大学理学院 应化系, 湖北 武汉 430070)

六味地黄作为一种滋补肾阴的传统复方药物已被使用了几千年,近年来,六味地黄因具有抗癌、提高人体免疫作用^[1]而备受关注。虽然它的药效明显,但由于煎煮时间长,味苦,同时较低的溶出率也抑制了六味地黄中成药的发展。纳米技术在生物、医药领域的迅速发展对中药产生了深刻的影响。受到矿物中药的启示,徐辉碧教授发现药物的药效不仅取决于药物组成,与药物制备时的状态也有关。当药物颗粒达到纳米级别时,药物会呈现出常态时不具有的新的物理化学、生物特性,据此提出了纳米中药的概念。目前已有一些纳米药物和专利的报道^[2~5],这些研究都表明了纳米技术可以显著提高矿物中药的药效。本实验采用高速离心剪切粉碎机制备了纳米六味地黄颗粒,对所得纳米颗粒进行了粒度分布测定和红外光谱分析,并测定了指标成分丹皮酚,为研究纳米粉碎对六味地黄化学成分的影响奠定基础。

1 仪器与试剂

HSCS 粉碎机(日本 NARA 机械制造有限公司);1110 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);DEGASSER 在线脱气机(美国);Quat Pump, DAD (美国);Analyst 色谱数据工作站;ZetaPALS 粒度

分析仪(美国 Brookhaven 公司);药材从湖北省中药材公司购得,经湖北中医研究院中药研究中心鉴定。丹皮酚对照品(质量分数 99.92%)由中国药品生物制品检定所提供;所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 纳米六味地黄的制备:药材清洗、干燥,均匀粉碎后过 80 目筛,得六味地黄细粉。取该细粉适量投入到 HSCS 粉碎机的投料罐中粉碎,即得。

2.2 粒度和粒度分布:粉末用 ZetaPALS 粒度分析仪进行粒度分析,见图 1。六味地黄粉碎后的平均粒径为 161.9 nm,并且曲线分布较窄,说明通过纳米粉碎技术可以得到均匀分布的纳米六味地黄粉末。

2.3 红外光谱分析:将六味地黄纳米粉末用 KBr 压片法进行红外光谱的测试,六味地黄细粉用同样的方法测试。结果见图 2。纳米粉碎前后六味地黄无论峰的位置还是峰的形状都相差不大,说明纳米粉碎后六味地黄主要成分的基团结构并没有发生变化。

2.4 丹皮酚的 HPLC 测定

2.4.1 色谱条件:色谱柱: C₁₈ 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(55 : 45);体积流量:

收稿日期:2005-04-15

基金项目:国家自然科学基金资助项目(50272047, 59925207)

作者简介:马培艳(1974—),女,河北人,讲师,博士,研究方向为纳米技术在中药中的应用。Tel: (027) 62581510

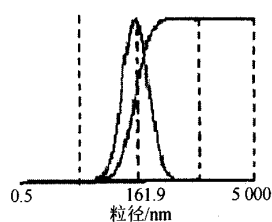


图 1 纳米六味地黄的粒度分布

Fig. 1 Particle size distribution of nano Liuwei Dihuang particles

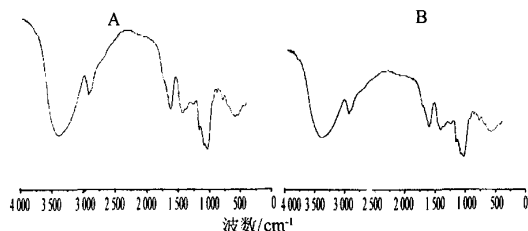


图 2 六味地黄细粉(A)和纳米粉(B)的红外光谱图

Fig. 2 FTIR spectrum of Liuwei Dihuang particles (A) and nano Liuwei Dihuang particles (B)

超声提取 20 min。滤过,残留物再次提取 20 min。合并上清液,水浴蒸干,用 50 mL 甲醇溶解残渣,然后用 0.2 μm 滤膜滤过,即得。

2.4.4 标准曲线的制备:精确称取 10 mg 丹皮酚置于 50 mL 量瓶中,加入流动相溶解至刻度,分别得到 0.332 5、0.400 0、0.666 5、0.800 0、1.333、1.999 5 $\mu\text{g/mL}$ 对照品溶液。每次取样 20 μL ,进行峰面积的测定。以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。所得标准曲线的回归方程为 $Y = 163.80519 + 10\,004.21653X$, $r = 0.99994$,表明丹皮酚在 0.3~2.0 $\mu\text{g/mL}$ 与峰面积线性关系良好。

2.4.5 稳定性试验:精密称取同一六味地黄细粉和纳米粉供试品溶液,进样 20 μL ,分别于配制后 0、4、8、12、24 h 测定峰面积。结果表明六味地黄细粉和纳米粉供试品溶液在 24 h 内基本稳定,细粉中丹皮酚峰面积的 RSD 为 1.30%,纳米粉的 RSD 为 1.28%。

2.4.6 精密度试验:精密量取同一六味地黄细粉和纳米粉供试品溶液,进样 20 μL ,重复进样 6 次,测定峰面积。结果细粉供试品溶液中丹皮酚峰面积的 RSD 为 1.32%,纳米粉供试品溶液的 RSD 为 1.35%。

2.4.7 重现性试验:分别称取 5 份六味地黄细粉和纳米粉,制备供试品溶液,测定峰面积。结果六味地

0.8 mL/min;检测波长:230 nm;柱温:25 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.4.2 对照品溶液的制备:精确称量 10 mg 丹皮酚置于 100 mL 量瓶中,加入流动相溶解后稀释至刻度,测定时再稀释 100 倍。

2.4.3 供试品溶液的制备:取 0.400 0 g 六味地黄细粉(或纳米粉)置于 50 mL 烧杯中,用 55% 甲醇

黄细粉中丹皮酚峰面积 RSD 为 1.10%,纳米粉的 RSD 为 1.30%。

2.4.8 回收率试验:采用加样回收法。精密称取六味地黄细粉和纳米粉约 0.400 0 g(含丹皮酚分别约 19、23 μg),分别加入丹皮酚对照品 23.3 μg ,制备供试品溶液,测定,计算回收率。结果六味地黄细粉和纳米粉的平均回收率分别为 100.5%(RSD 为 0.14%)、101.7%(RSD 为 1.99%, $n=6$)。

2.4.9 丹皮酚的测定:分别吸取丹皮酚对照品溶液和六味地黄细粉、纳米粉供试品溶液各 20 μL ,进样,测定峰面积,计算丹皮酚的质量分数。色谱图见图 3,结果见表 1。

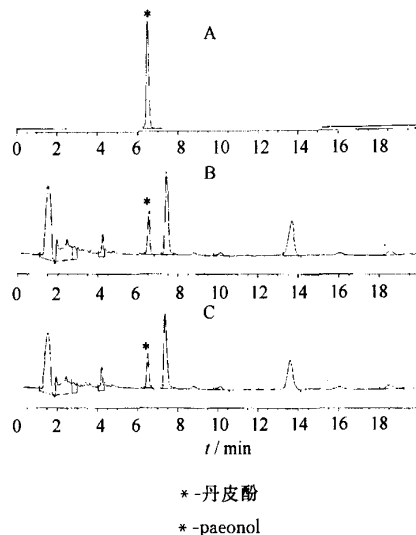


图 3 丹皮酚对照品(A)、六味地黄纳米粒(B)和细粉(C)的 HPLC 图

Fig. 3 HPLC chromatograms of paeonol reference substance (A), nano Liuwei Dihuang particles (B), and particles (C)

表 1 六味地黄细粉和纳米粉中丹皮酚测定结果 ($n=3$)

Table 1 Paeonol in Liuwei Dihuang particles and nano particles ($n=3$)

编号	丹皮酚/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	
	细粉	纳米粉
1	0.047 44	0.058 50
2	0.047 28	0.058 37
3	0.047 24	0.058 48

结果纳米六味地黄中丹皮酚的质量分数为 0.058 mg/g ,明显高于六味地黄细粉的质量分数 0.047 mg/g 。说明了在相同的时间内,纳米六味地黄有效成分溶出的量要多于六味地黄细粉。

2.5 显微结构的比较:六味地黄细粉和纳米六味地黄的光学显微照片见图 4。当药物被粉碎到纳米级

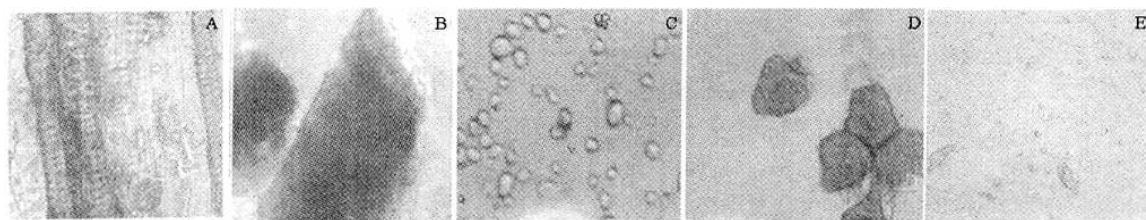


图 4 六味地黄细粉(A~D)和纳米颗粒(E)的显微特征

Fig. 4 Microscopic characteristics of Liuwei Dihuang particles (A - D) and nano particles (E)

别时,植物的细胞膜和细胞壁完全被破碎,有效成分可以直接溶出,而六味地黄细粉细胞膜和细胞壁大部分仍是完整的,有效成分的溶出必须经过扩散和渗透作用,因此溶出速率较慢。

3 结论

本实验中通过 HSCS 超细粉碎技术制备了纳米六味地黄颗粒,并采用 IR 进行有效成分的分析, HPLC 进行丹皮酚的测定,结果红外光谱和高效液相色谱测试结果说明六味地黄纳米化后,有效成分的结构没有发生变化。

该纳米技术通过将植物细胞壁和细胞膜破碎以提高有效成分的溶出率,使得丹皮酚的提取率增加,

因此 HSCS 是提高有效成分提取率的新技术。

References:

- [1] Nie W, Zhang Y X, Ru X B, *et al.* Evaluation of immunomodulating activity of the Liuwei Dihuang Decoction during the Step Wise Fractionation [J]. *Chin J Integr Med; Engl Ed* (中国中西医结合杂志:英文版), 1998, 18: 287-289.
- [2] Yang X L, Xie C X, Xu H B, *et al.* Preparation of nano *Concha Haliotidis* [P]. 01106679.2, 2001-04-30.
- [3] Xie C X, Yang X L, Xu H B, *et al.* Preparation of nano Reagler [P]. 001133643.9, 2001-11-07.
- [4] Xu H B, Xie C X, Yang X L, *et al.* Preparation of nano magnet [P]. 01106680.6, 2000-09-25.
- [5] Wang X B, Xi R G, Li Z L, *et al.* Preparation of nanoparticles Realgar powders [J]. *Pham J Chin PLA* (解放军药学报), 2002, 18 (3): 129-134.

粉防己碱缓释片体外释放度试验

刘产明¹, 卢宇²

(1. 南京中医药大学附属常州市中医院, 江苏 常州 213003; 2. 常州市药品检验所, 江苏 常州 213003)

粉防己碱(汉防己甲素, tetrandrine)是从防己科植物粉防己 *Stephania tetrandra* S. Moore 的干燥根中提取的一种双苄基异喹啉生物碱, 具有抗心律失常、抗高血压、抗炎、抗肿瘤等作用, 在心血管、免疫系统及抗肿瘤等领域的临床应用中具有广阔的前景^[1,2]。近年来, 为了研究粉防己碱降压、逆转血管重构作用, 笔者根据粉防己碱的性质、治疗目的、给药途径和患者重要的生理病理因素, 研制了粉防己碱缓释片。本实验对粉防己碱缓释片进行了体外释放度研究。

1 仪器与试药

ZRS-4 型智能溶出试验仪(天津大学无线电厂), 7520 型分光光度计(上海分析仪器厂), UV-3200 分光光度计(日立)。粉防己碱缓释片(自制),

粉防己碱对照品(中国药品生物制品检定所)。

2 方法与结果

2.1 紫外吸收图谱的比较

2.1.1 供试品溶液的制备: 取样品 10 片, 研细, 精称适量药粉(相当于 1 片质量), 置 1 000 mL 量瓶中, 加 0.1 mol/L 盐酸适量, 超声 15 min, 加 0.1 mol/L 盐酸至刻度, 摇匀, 用滤膜滤过。精吸续滤液 2.5 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加 0.1 mol/L 盐酸至刻度, 摇匀, 即得供试品溶液 I。

取样品 10 片, 研细, 精称适量药粉(相当于 1 片质量), 置 1 000 mL 量瓶中, 加 0.1 mol/L 盐酸 80 mL, 超声 15 min, 加 0.2 mol/L 磷酸钠溶液 30 mL, 加磷酸盐缓冲液至刻度, 摇匀, 用滤膜滤过。精吸续滤液 2.5 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加磷酸盐缓冲液至