

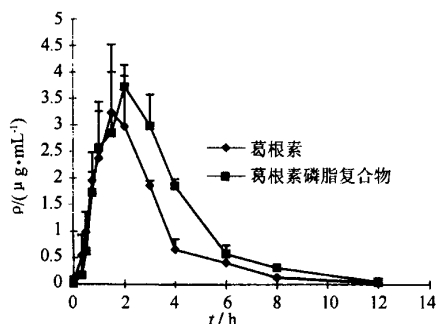


图 2 Beagle 犬口服葛根素和葛根素磷脂复合物后葛根素的血药浓度-时间曲线 ($n=3$)

Fig. 2 Concentration-time curves of puerarin after ig puerarin and its phospholipid complex ($n=3$)

3 讨论

本实验采用 4-羟基苯甲醛为内标的 HPLC 法测定葛根素的血药浓度,能有效、快速、简便地测定血清中葛根素的质量浓度,符合药动学研究的要求。药动学数据经 3P97 程序包曲线拟合后,动力学行为符合开放型双室一级模型。

由于葛根素难溶于水和一般有机溶剂,口服吸收差,生物利用度低,从而影响了其临床疗效。通过研制其磷脂复合物,增加其水溶性和脂溶性,改善其

生物利用度。本实验中分别对犬按 52.5 mg/kg 给药葛根素及其磷脂复合物,从结果可见:葛根素及其磷脂复合物中葛根素的 AUC 之间有显著性差异, AUC 为原水平的 1.72 倍,而达峰时间、达峰浓度之间没有显著性差异。表明葛根素磷脂复合物可改善葛根素在犬体内的吸收,从而有效提高葛根素口服的生物利用度。

致谢:本研究获得香港赛马会慈善基金资助

References:

- [1] Zhu Q L, Lü X R. The pharmacology and clinical application of puerarin [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1997, 28 (11): 693-696.
- [2] Wu Z H, Zu Y Q, Yan H Y, *et al.* The study on the solubility of puerarin and the solubilizing effect of macromolecule polymers on it [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30 (Suppl): 88-89.
- [3] Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences. *Modern Research of Traditional Chinese Medicine* (中草药现代化研究) [M]. Beijing: Beijing Medical University and China Union Medical University United Press, 1994.
- [4] Bialecka M. The effect of bioflavonoids and lecithin on the course of experimental atherosclerosis in rabbits [J]. *Ann Acad Med Stein*, 1997, 43: 41-44.
- [5] Gatti G, Peruua E. Plasma concentrations of free and conjugated silybin after oral intake of a silybinphosphatidylcholine complex in healthy volunteers [J]. *Int Clin Pharmacol Ther*, 1994, 32 (11): 614-618.

人参皂苷 Rg₂ 注射液制备工艺的研究

严铭铭¹, 王 旭¹, 钟英杰¹, 李龙云², 曲晓波¹, 赵大庆^{1*}

(1. 长春中医学院, 吉林 长春 130021; 2. 吉林省中医中药研究院, 吉林 长春 130021)

摘要:目的 确定人参皂苷 Rg₂ 注射液的制备条件。方法 采用正交试验法研究注射液的优化工艺条件。结果 工艺条件是:选用 25% 1,2-丙二醇与 25% 聚乙二醇 400 为混合助溶剂,不加抗氧剂,调节注射液 pH 值为 3.5~5.5。结论 该制备工艺稳定、可靠,可作为人参皂苷 Rg₂ 注射液的制备工艺。

关键词:人参皂苷 Rg₂; 注射液; 制备工艺

中图分类号:R284.2; R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2006)05-0697-04

Preparation of Ginsenoside Rg₂ Injection

YAN Ming-ming¹, WANG Xu¹, ZHONG Ying-jie¹, LI Long-yun², QU Xiao-bo¹, ZHAO Da-qing¹

(1. Changchun College of Traditional Chinese Medicine, Changchun 130021, China; 2. Jilin Academy of Traditional Chinese Medicine and Chinese Materia Medica, Changchun 130021, China)

Key words: ginsenoside Rg₂; injection; preparation technology

人参皂苷 Rg₂ 为本室从人参茎叶中提取的单一

有效化合物,药理实验表明其具有明显改善心肌血

收稿日期:2005-10-27

基金项目:国家“九五”重大项目“1035”工程项目(96-901-01-12)

作者简介:严铭铭(1968—),女,吉林省长春市人,副教授,在读博士生,研究方向为中药化学与中药新药开发。

E-mail: yanmm595@yahoo.com.cn

* 通讯作者 赵大庆 Tel: (0431) 6178561

氧供应和对损伤心肌的保护作用^[1]。因此本室将人参皂苷 R_{g2} 制成了具有抗休克作用的注射液。在工艺试制过程中,人参皂苷 R_{g2} 在注射液中的溶解度及在溶剂中的稳定性成为制备工艺的关键。由于人参皂苷 R_{g2} 不溶于水,但根据临床药理研究要求配制 5 mg/mL 以上的注射液。因此本实验考察了人参皂苷 R_{g2} 在水中和加入不同助溶剂环境中的溶解度,同时考察了 pH 值对人参皂苷 R_{g2} 稳定性的影响,以求选择合理的成型工艺。

1 试药与仪器

人参皂苷 R_{g2} 为本室从人参茎叶中提取,质量分数为 98% 以上。高效液相色谱仪(岛津 LC—10AT 高效液相色谱仪);SPD—10Avp 紫外检测器。

2 方法与结果

2.1 人参皂苷 R_{g2} 溶解度的研究:根据人参皂苷 R_{g2} 的溶解性,拟采用 1,2-丙二醇或聚乙二醇 400 为助溶剂。为此,研究了分别以 1,2-丙二醇和聚乙二醇 400 为助溶剂的溶解情况,结果见表 1。当用 1,2-丙二醇为助溶剂时,其体积分数为 50% 以上,人参皂苷 R_{g2} 具有良好的溶解性;当用聚乙二醇 400 为助溶剂时,其体积分数也为 50% 以上,人参皂苷 R_{g2} 具有较好的溶解性。同时,实验考察了不同体积分数 1,2-丙二醇和聚乙二醇 400 的溶血性,结果见表 2。可以看出聚乙二醇 400 体积分数大于 25% 时,具有溶血性,而 1,2-丙二醇任何体积分数均不具溶血性。但据文献报道 1,2-丙二醇体积分数过高可产生过敏反应,因此考察以 1,2-丙二醇和聚乙二醇 400 为混合助溶剂的溶解情况,结果见表 3。可以看出,11 号、12 号、15 号均可采用。

表 1 人参皂苷 R_{g2} 加助溶剂的溶解情况

Table 1 Dissolution of ginsenoside R _{g2} with adding flux						
人参皂苷 R _{g2} /mg	聚乙二醇 400/mL	1,2-丙二醇/mL	水/mL	混合 5 min	水浴(80℃) 5 min	冷却 后 24 h
50.0	6.0		4.0	不溶	溶	溶
50.0	5.0		5.0	不溶	溶	溶
50.1	4.0		6.0	不溶	溶	混浊
50.0	3.0		7.0	不溶	混浊	混浊
50.2	2.0		8.0	不溶	混浊	混浊
50.0		6.0	4.0	不溶	溶	溶
50.1		5.0	5.0	不溶	溶	溶
50.0		4.0	6.0	不溶	溶	混浊
50.0		3.0	7.0	不溶	混浊	混浊
50.1		2.0	8.0	不溶	混浊	混浊

2.2 HPLC 测定人参皂苷 R_{g2}

2.2.1 色谱条件:色谱柱:ODS C₁₈柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm);柱温:室温;流动相:甲醇-磷酸溶液(1→25)(6:4);体积流量:1.0mL/min;检测波

表 2 助溶剂溶血结果

Table 2 Result of hemolysis of flux						
溶 液	1 管	2 管	3 管	4 管	5 管	6 管
25% 聚乙二醇 400	—	—	—	—	—	—
30% 聚乙二醇 400	—	—	—	+	±	—
50% 聚乙二醇 400	—	—	+	+	+	—
100% 聚乙二醇 400	—	±	+	+	+	—
25% 1,2-丙二醇	—	—	—	—	—	—
30% 1,2-丙二醇	—	—	—	—	—	—
50% 1,2-丙二醇	—	—	—	—	—	—
100% 1,2-丙二醇	—	—	—	—	—	—

“+”为溶血 “—”为不溶血
“+” hemolysis “—” nonhemolysis

表 3 人参皂苷 R_{g2} 加混合助溶剂的溶解情况

Table 3 Dissolution of ginsenoside R _{g2} with adding mix flux						
编号	人参皂苷 R _{g2} /mg	聚乙二醇 400/mL	1,2-丙二醇/mL	水/mL	混合 5 min	水浴(80℃) 5 min 冷却 后 24 h
1	50.0	1.5	1.5	7.0	不溶	混浊 不溶
2	50.1	1.5	2.0	6.5	不溶	溶 不溶
3	50.0	1.5	2.5	6.0	不溶	溶 不溶
4	50.0	1.5	3.0	5.5	不溶	溶 不溶
5	50.1	2.0	1.5	6.5	不溶	溶 不溶
6	50.0	2.0	2.0	6.0	不溶	溶 不溶
7	50.0	2.0	2.5	5.5	不溶	溶 不溶
8	50.0	2.0	3.0	5.0	不溶	溶 不溶
9	49.9	2.25	1.5	6.25	不溶	溶 不溶
10	50.0	2.25	2.0	5.75	不溶	溶 不溶
11	50.1	2.25	2.5	5.25	不溶	溶 溶
12	50.1	2.25	3.0	4.75	不溶	溶 溶
13	50.0	2.5	1.5	6.0	不溶	溶 不溶
14	50.1	2.5	2.0	5.5	不溶	溶 不溶
15	50.1	2.5	2.5	5.0	不溶	溶 溶

长:203 nm。
2.2.2 线性关系的考察:精密称取 50℃减压干燥至恒重的 20(S)-和 20(R)人参皂苷 R_{g2} 各 25 mg,分置于 10 mL 量瓶中,加聚乙二醇 400-1,2-丙二醇-水(1:1:2)溶解并稀释至刻度,摇匀。准确吸取 20(S)-人参皂苷 R_{g2} 4、8、10、12、16 μL;20(R)-人参皂苷 R_{g2} 6、8、10、12、16 μL 分别注入高效液相色谱仪。以样品量为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。其中 20(S)-人参皂苷 R_{g2} 的回归方程为 Y=1 088.813 X-2 558.585, r=0.999 89,线性范围:10~40 μg;20(R)-人参皂苷 R_{g2} 的回归方程为 Y=1 407.51 X-7 299.3, r=0.999 89,线性范围:12~32 μg。

2.2.3 精密度试验:准确吸取供试品溶液 10 μL,重复进样 6 次,峰面积积分值 20(S)-人参皂苷 R_{g2} 的 RSD 为 1.07%,20(R)-人参皂苷 R_{g2} 的 RSD 为 0.99%。

2.2.4 稳定性试验:取供试品溶液,精密吸取 10 μ L 进样,间隔一定时间,结果在 24 h 内测得峰面积积分值基本无变化。

2.2.5 回收率试验:本品 12.5 mg,5 份,分别加入 20 (S)和 20 (R)-人参皂苷 R_{g2} 对照品 7.5 mg 和 5.5 mg,于 10 mL 量瓶中,加聚乙二醇 400-1,2-丙二醇-水(1:1:2)溶解并稀释至刻度,摇匀,吸取 20 μ L,进样测定,结果表明 20 (S)-人参皂苷 R_{g2} 的平均回收率为 99.7%,RSD 为 1.102%;20 (R)-人参皂苷 R_{g2} 的平均回收率为 101.2%,RSD 为 1.611%。

2.2.6 测定:精密称取 R_{g2} 0.2 g,共 9 份,分别用正交表中 1~9 号试剂溶解,于 80 $^{\circ}$ C 水浴上使完全溶解,经 G₃ 垂熔漏斗滤过,用试剂调至 40 mL,再用 0.45 nm 微孔膜进行超滤,灌封 2 mL 瓶中,于 100 $^{\circ}$ C 流通蒸气灭菌 30 min,作为供试品溶液高效液相色谱法进行测定。

2.3 正交试验

2.3.1 因素水平的确定:影响本注射液稳定性的因素主要有 R_{g2} 的溶解性、氧化、水解,为保证本注射液的稳定性,选取抗氧剂、助溶剂用量(根据表 3 结果所定)、pH 值 3 因素作为考察因素。见表 4。

表 4 因素水平

Table 4 Factors and levels

水 平	因 素		
	A 抗氧剂	B 助溶剂	C pH 值
1	H ₂ O	30% 1,2-丙二醇,20% 聚乙二醇 400	7.5~9.5
2	NaHSO ₃	30% 1,2-丙二醇,22.5% 聚乙二醇 400	5.5~7.5
3	Na ₂ SO ₃	25% 1,2-丙二醇,25% 聚乙二醇 400	3.5~5.5

2.3.2 考察指标的确定:以正交试验表设计制成的样品,采用高效液相测定人参皂苷 R_{g2},再将部分样品置于恒温箱中,于 50 $^{\circ}$ C 放置 10 d,再测定人参皂苷 R_{g2},并以标示量(10 mg/支)减去加热前后的人参皂苷 R_{g2} 的差作为考察指标进行分析。

考察指标=标示量(10 mg/支)-[加热前人参皂苷 R_{g2} (mg/支)-加热后人参皂苷 R_{g2} (mg/支)]

2.3.3 正交试验结果:采用 L₉(3⁴)正交表进行试验,结果见表 5。方差分析见表 6。

从直观分析选择 A₂B₃C₃,从方差分析结果看,因素 A 为不显著因素,即加不加抗氧剂对稳定性无显著影响,为了减少工艺的繁琐,不加抗氧剂。因素 B 为有影响的因素,即加助溶剂对制剂的稳定性有影响,且从直观分析可以看出 B₃>B₂>B₁,即选用 25% 1,2-丙二醇和 25% 聚乙二醇 400 作为助溶剂,效果最好;因素 C 为显著因素,即 pH 值对稳定性有

显著性影响,参照 C₃>C₁>C₂,选择因素 C₃,即 pH 值为 3.5~5.5。

表 5 L₉(3⁴)正交试验设计

Table 5 Design of L₉(3⁴) orthogonal test

试验号	A	B	C	D (空白)	人参皂苷 R _{g2} /(mg·支 ⁻¹)		考察指标
					加热前	加热后	
1	1	1	1	1	10.151	8.930	8.779
2	1	2	2	2	9.994	8.642	8.648
3	1	3	3	3	10.370	10.261	9.891
4	2	1	2	3	9.714	7.845	8.131
5	2	2	3	1	10.210	10.197	9.987
6	2	3	1	2	9.991	9.244	9.253
7	3	1	3	2	10.249	9.116	8.867
8	3	2	1	3	10.397	9.353	8.956
9	3	3	2	1	10.233	8.728	8.495
I	27.318	25.777	26.988	27.261			
II	27.371	27.591	25.274	26.768			
III	26.318	27.639	28.745	26.978			
I	9.106	8.592	8.996	9.087			
II	9.124	9.197	8.425	8.923			
III	8.773	9.213	9.582	8.993			
R	0.351	0.621	1.157	0.164			

表 6 方差分析

Table 6 Variance analysis

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	显著性
A	0.234 6	2	0.117 30	5.750	
B	0.751 1	2	0.375 55	18.409	
C	2.008 1	2	1.004 05	49.218	P<0.05
D(误差)	0.040 8	2	0.020 40		

$F_{0.01}(2,2)=99$ $F_{0.05}(2,2)=19$

2.4 最佳工艺验证:精密称取 R_{g2} 1.0 g,加入 1,2-丙二醇与聚乙二醇 400 混合溶液(1,2-丙二醇、聚乙二醇 400 与注射用水的体积比为 1:1:2) 195 mL,于 80 $^{\circ}$ C 水浴上使溶解完全,调 pH 至 3.5~5.5,经 G₃ 垂熔漏斗滤过,用试剂调至 200 mL,再用 0.45 nm 微孔膜进行超滤,灌封 2 mL 瓶中,于 100 $^{\circ}$ C 流通蒸气灭菌 30 min,高效液相色谱法进行测定。同时,于 38 $^{\circ}$ C 进行加速稳定性试验,连续观察 3 个月,结果见表 7。从结果可以看出,人参皂苷 R_{g2} 基本没有变化,说明该工艺稳定可靠。

表 7 最佳工艺验证结果

Table 7 Verified result of optimum procedure

检测月份	人参皂苷 R _{g2} /(mg·支 ⁻¹)	澄明度
当月	10.002	好
1 月	9.996	好
2 月	9.992	好
3 月	9.958	好

3 讨论

3.1 在确定考察指标时,采用了一个小的加速试验,从而以加速试验前后人参皂苷 R_{g2} 的变化作为考察指标,能较为准确地反应出助溶剂、抗氧剂及

pH 值对注射剂的影响。

3.2 人参皂苷 R_{g_2} 注射液所用的人参皂苷 R_{g_2} 为 S 型与 R 型的等量异构体, 本实验中人参皂苷 R_{g_2} 的测定, 采用了 S 型与 R 型分别测定法。

3.3 应对最优工艺条件进行验证试验, 以确保工艺的重复性和正确性, 本研究最优工艺为 $A_1B_2C_3$, 即选用 25% 1,2-丙二醇与 25% 聚乙二醇 400 为混合

助溶剂, 不加抗氧剂, 调节注射液 pH 值为 3.5~5.5。在实际人参皂苷 R_{g_2} 注射液配制过程中, 基本上不用调 pH 值, 其注射液 pH 值已在 3.5~5.5。

Reference:

- [1] Zhang Z W, Zhao Y J, Ye J M, et al. Effects of ginsenoside R_{g_2} on myocardial damage induced by endotoxin diffuse intravascular coagulation and hemorrheology [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33 (9): 814-816.

羟丙基- β -环糊精对降香挥发油包合作用的研究

王 靖¹, 张铁军², 王文燕²

(1. 天津中医学院, 天津 300193; 2. 天津药物研究院, 天津 300193)

摘 要:目的 研究降香挥发油的羟丙基- β -环糊精包合物的制备方法及包合物的验证。方法 采用水溶液搅拌法制备降香挥发油的羟丙基- β -环糊精包合物, 采用 HPLC 法测定降香挥发油和包合物的水溶液中反式-橙花叔醇, 并经薄层色谱、差示热分析、相溶解度法、核磁共振、扫描电镜法对包合物进行验证。结果 降香挥发油已和羟丙基- β -环糊精形成包合物。结论 羟丙基- β -环糊精可以包合降香挥发油, 使降香挥发油溶解度提高 41 倍。

关键词:降香; 挥发油; 羟丙基- β -环糊精; 包合物

中图分类号: R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2006)05-0700-04

Inclusion complex of volatile oil from *Lignum Dalbergiae Odoriferae* with hydroxypropyl- β -cyclodextrin

WANG Jing¹, ZHANG Tie-jun², WANG Wen-yan²

(1. Tianjin College of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China; 2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China)

Key words: *Lignum Dalbergiae Odoriferae* (LDO); volatile oil; hydroxypropyl- β -cyclodextrin; inclusion complex

降香为豆科植物降香檀 *Dalbergia odorifera* T. Chen 树干和根的干燥心材, 主产于海南, 具有行气活血、止痛、止血的功能。常与丹参、川芎等组成复方, 制成注射剂, 用于心脑血管系统疾病的治疗, 具有抗血栓形成的作用^[1]。降香主要成分为挥发油, 且与其主治功效密切相关^[2]。但挥发油在水中溶解性差, 且性质不稳定, 易挥发、氧化变质。为了减少制剂过程中挥发油的损失, 本实验采用羟丙基- β -环糊精 (HP- β -CD) 对降香挥发油进行包合, 通过正交试验对包合工艺进行优化, 并对包合物进行验证, 对包合前后挥发油的性质进行了研究。

1 仪器与材料

戴安液相色谱仪 (P6801 泵, UVD170U 紫外检测器, ASI-100 自动进样器, Chromeleon 色谱工作站), Agilent 公司 HP-6890 气相色谱仪, DW-1

型无极直流恒速搅拌器 (巩义市英峪予华仪器厂), Lyo-0.4 冷冻干燥机, PB303-N 电子天平 (METTLER TOLEDO), 日本理学标准型 TG-DTA 分析仪, BRUKER 400 MHz 超导核磁谱仪, HITACHI S-3500N 扫描电子显微镜。

橙花叔醇对照品 (Sigma 公司, 顺反异构混合液), HP- β -CD (西安德立化工有限公司), 正十四醇 (色谱标准, 天津市光复精细化工研究所), 降香药材产地为海南九龙山, 经鉴定符合《中国药典》2005 年版一部“降香”项下规定, 甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯, 水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 挥发油的提取: 称取粉碎粒度为 0.5~2 cm 的降香药材 100 g, 加 8 倍量水, 浸泡 12 h, 水蒸气蒸馏法提取挥发油, 收集挥发油经适量无水硫酸钠脱水,