

质有生理盐水、适宜体积分数的乙醇和聚乙二醇等,本研究考虑到木兰脂素的溶解性能,选择40%乙醇作为接受介质,获得了不同皮肤模型的差异性试验结果。有关40%乙醇作为接受介质的适宜性有待进一步研究。

动物去毛时需仔细剪除并不破坏到皮肤,皮肤用手术刀小心剥离后置15倍放大镜下观察有无破损或病变。实验用皮肤最好现取现用,若需保存,则要展平,用10%的甘油浸润,可以防止冰晶形成,保护皮肤细胞完整。再置密封性好的塑封袋内,于-20℃以下冰箱中保存备用。临用前取出,放置时间不宜过长,一般不超过1个月。

以8种皮肤作为透皮实验材料对穴贴定喘膏的透皮吸收进行研究,发现其体外释药为一线性递增过程,符合零级释放。

硝酸纤维素膜是一种亲水性膜,肉豆蔻酸异丙

酯作为一种亲脂性成分用来浸渍硝酸纤维素膜,增加脂质结构,尽可能模拟角质层限速。经肉豆蔻酸异丙酯浸渍的硝酸纤维素膜渗透性远大于其他皮肤,其重现性好、易操作,可用于含亲脂性成分中药透皮贴剂基质处方的预筛选,能否作为中药经皮给药制剂的体外扩散试验评价体系最合适的皮肤模型,有待进一步的实验验证。

References:

- [1] Chu P, Huang Y B, Lin H H, et al. Percutaneous absorption of captopril from hydrophilic cellulose gel through excised rabbit skin and human skin [J]. *J Pharm Sci*, 1996, 145: 215-220.
- [2] Santóyq S, Arellano A, Yjartua P, et al. *In vitro* percutaneous absorption of piroxicam through synthetic membranes and abdominal rat skin [J]. *Pharm Acta*, 1996, 71: 141-146.
- [3] Ni M H, Di L Q, Sun S P. HPLC Determination of magnolin in Xuetie Dingchuan Plaster [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol* (中药新药与临床药理), 2005, 16(2): 433-435.

HPLC 法测定侧柏叶及其制剂侧柏 V 号胶囊和异海松酸胶囊中异海松酸

程立方¹, 崔秀君², 马海勇³

(1. 山东省中医药研究院, 山东 济南 250014; 2. 济南市妇幼保健院, 山东 济南 250001;

3. 南京中医药大学, 江苏 南京 210046)

摘要:目的 建立异海松酸的 HPLC 测定方法, 控制侧柏叶及其制剂侧柏 V 号胶囊和异海松酸胶囊的质量。方法 采用高效液相色谱法。色谱条件: Kromasil C₁₈ 柱(200 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水-冰醋酸(60:37:3); 体积流量: 1 mL/min; 柱温: 25℃; 检测波长: 231 nm; 进样量: 10 μL。采用外标法计算样品中异海松酸的质量分数。结果 异海松酸的线性关系范围为 1.25~10.00 μg, 回归方程为 Y=66 214 X+2 487.9, r=1.000。平均回收率为 95.8%, RSD 为 2.7% (n=5)。侧柏叶药材中异海松酸的测定结果分别为 3.09、3.20、3.56 mg/g, 侧柏 V 号胶囊的测定结果分别为 10.39、9.67、10.99 mg/g, 异海松酸胶囊的测定结果分别为 553.89、541.50、528.83 mg/g。结论 该方法简便、准确、分离效果好、无干扰, 可用于侧柏及其胶囊的质量评价。

关键词: 侧柏; 侧柏 V 号胶囊; 异海松酸胶囊; 异海松酸; 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(2007)04-0521-03

Determination of isopimaric acid in leaves of *Platycladus orientalis* and its preparations Cebai No. V Capsula and Isopimaric Acid Capsula by HPLC

CHENG Li-fang¹, CUI Xiu-jun², MA Hai-yong³

(1. Shandong Academy of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China; 2. Jinan Maternity and Children Health Hospital, Jinan 250001, China; 3. Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

Abstract: Objective To establish an HPLC method for the determination of isopimaric acid in the leaves of *Platycladus orientalis* and its preparations Cebai No. V Capsula and Isopimaric Acid Capsula to evaluate the quality of them. **Methods** HPLC Method was developed. Kromasil C₁₈ (200 mm×4.6 mm, 5 μm) column was used and the mobile phase; methyl alcohol - water - acetic acid (60:37:3), float

收稿日期: 2006-07-12

基金项目: 山东省中医管理局科技计划项目(ZY19981018)

作者简介: 程立方(1965—), 男, 山东济南人, 副研究员, 从事中药及复方活性成分与质量控制研究工作。

Tel: (0531)86671401 E-mail: clf01@163.com

rate: 1 mL/min, temperature: 25 °C, wavelength: 231 nm, injected volume: 10 μL. Content of isopimaric acid in samples was calculated by external standard. **Results** The linearity relationship of isopimaric acid was good in the range of 1.25–10.00 μg. The equation of standard curve: $Y=66\ 214 X+2\ 487.9$, $r=1.000$. The average recovery was 95.8%, $RSD=2.7\%$ ($n=5$). The determination results of isopimaric acid in three batches of *P. orientalis* were 3.09, 3.20, and 3.56 mg/g; three batches of Cebai No. V Capsula were 10.39, 9.67, and 10.99 mg/g; three batches of Isopimaric Acid Capsula were 553.89, 541.50, and 528.83 mg/g. **Conclusion** The method is reliable, simple, and precise, which could be used for the quality control of *P. orientalis* and its capsules.

Key words: *Platycladus orientalis* (L.) Franco; Cebai No. V Capsula; Isopimaric Acid Capsula; isopimaric acid; HPLC

侧柏叶为中医常用止血药,具有凉血止血、生发乌发之功效。曾在临床上用于治疗肺结核,共总结 300 例疗效较好。本课题组完成了侧柏叶抗结核成分的化学与药理研究,分离出侧柏 V 号结晶。该物质对结核标准菌株和 3 种耐药菌株均有抑制作用,而且急性毒性试验表明毒性较小。从侧柏叶醇浸膏中分离的抗结核活性成分异海松酸即为侧柏叶及其制剂的指标成分,可用于控制其质量^[1]。因此本实验探讨建立 HPLC 法测定侧柏叶及其制剂侧柏 V 号胶囊和异海松酸胶囊中该成分。

1 仪器与材料

Waters HPLC 系统: Waters 600E 泵, 7725i 定量进样阀, 996 二级管阵列检测器, M32 色谱工作站。甲醇为一级色谱纯, 天津市四友生物医学技术有限公司; 其他试剂为分析纯。

异海松酸对照品由本课题组制备。熔点 161~164 °C; 元素分析 $C_{20}H_{30}O_2$ 实测值 C 79.75%, H 10.10%; 紫外光谱 λ_{max}^{EtOH} (nm): 231 nm; 红外光谱 ν_{max}^{KBr} (cm^{-1}): 2 859, 2 728, 1 667, 1 449, 1 370, 1 266, 1 176, 1 127, 940, 902; 质谱: m/z 302 (M^+), 287, 257; 核磁共振谱 δ : 0.82 (单峰 CH_3^-), 1.00 (单峰 CH_3^-), 1.18 (单峰 CH_3^-), 4.73~4.93 (四重峰 $CH_3CH=CH_2$), 与文献报道^[2]的异海松酸完全一致。采用 HPLC 法测试其质量分数为 98.82%。

侧柏叶采自济南市燕子山, 晾干, 经鉴定为侧柏 *Platycladus orientalis* (L.) Franco 的叶, 粉碎过 1 号筛。侧柏 V 号胶囊由采集的侧柏叶经 85% 乙醇提取制备, 由山东省中医药研究院制剂室与山东中医药大学药厂制备, 塑料袋密封包装, 规格为每粒胶囊装量 0.45 g, 含 0.3 g 侧柏叶提取物。异海松酸胶囊由山东省中医药研究院制剂室制备, 主要辅料为淀粉, 按一定工艺制成, 装入胶囊, 规格为每粒胶囊装量 0.3 g。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备: 取异海松酸对照品适量, 精密称定, 以甲醇制成 0.5 mg/mL 的对照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备: 取侧柏叶药材粉碎过 3 号筛, 取粉末约 1 g, 精密称定, 置烧瓶中加 30 mL 乙醇回流提取 2 h, 滤过, 洗涤滤纸, 残渣加 30 mL 乙醇回流提取 1 h, 滤过, 洗涤滤纸, 合并滤液并水浴蒸干, 残渣加 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液 15 mL 分次溶解, 转入分液漏斗中, 加氯仿萃取 3 次, 每次 15 mL, 弃去氯仿溶液, 碱水溶液加 5 mol/L 盐酸调 pH 值为 2, 加氯仿萃取 4 次, 每次 15 mL, 合并氯仿溶液, 水浴蒸干, 残渣加甲醇分次溶解, 转移至 10 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 进样前用 0.45 μm 滤膜滤过, 作为侧柏叶药材供试品溶液。

取侧柏 V 号胶囊内容物研细, 约取 0.5 g, 精密称定, 置圆底烧瓶中, 精密加入甲醇 30 mL, 精密称定, 加热回流 0.5 h, 放冷, 再精密称定, 用甲醇补足损失的质量, 滤过, 取续滤液 20 mL, 水浴蒸干, 残渣加 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液 15 mL 分次溶解, 同侧柏叶药材供试品的制备方法操作, 转移至 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 作为侧柏 V 号胶囊供试品溶液。

取异海松酸胶囊内部物约 0.05 g, 精密称定, 加甲醇 50 mL 振摇提取 15 min, 滤过, 取续滤液 10 mL 置量瓶中, 作为异海松酸胶囊供试品溶液。

2.3 检测波长的选择: 取异海松酸对照品溶液在岛津 UV-265FW 分光光度仪上 190~700 nm 波长扫描, 得最大吸收峰为 234 nm。在 HPLC 系统检测器上扫描验证为 231 nm。选择检测波长 231 nm。

2.4 色谱条件: Kromasil C_{18} 柱 (200 mm × 4.6 mm, 5 μm) [先德(天津)科技仪器有限公司]; 流动相: 甲醇-水-冰醋酸 (60 : 37 : 3); 体积流量: 1 mL/min; 柱温: 25 °C; 检测波长: 231 nm; 进样量: 10 μL。色谱图见图 1。

2.5 标准曲线的制备: 分别精密吸取 0.5 mg/mL

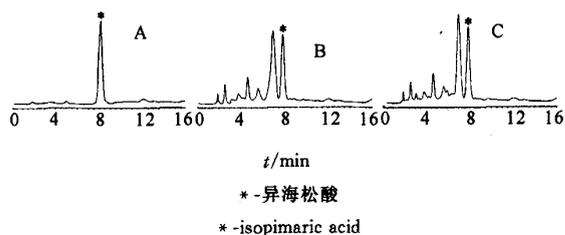


图 1 异海松酸对照品(A)、侧柏叶(B)和侧柏 V 号胶囊(C)的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC Chromatograms of isopimaric acid reference substance (A), *P. orientalis* leaves (B), and Cebai No. V Capsula (C)

异海松酸对照品溶液 2.5、5.0、10.0、15.0、20.0 μL 注入液相色谱仪,测定峰面积积分值。以峰面积积分为纵坐标,实际进样量为横坐标,绘制标准曲线。结果表明,异海松酸在 1.25~10.00 μg 与峰面积积分值呈良好的线性关系,其回归方程为 $Y = 66\,214X + 2\,487.9, r = 1.000$ 。

2.6 精密度试验:取 0.5 mg/mL 异海松酸对照品溶液,重复进样 5 次,测定异海松酸峰面积积分值,计算得其 RSD 为 0.85%。取侧柏 V 号胶囊供试品溶液,重复进样 5 次,测定异海松酸峰面积积分值,计算得其 RSD 为 1.08%。

2.7 稳定性试验:取侧柏 V 号胶囊供试品溶液,每隔 1 h 进样测定 1 次,5 h 内异海松酸峰面积积分值稳定,其 RSD 为 1.03% ($n = 5$)。

2.8 重现性试验:取同一批侧柏 V 号胶囊(批号 20050923)样品,共 5 份,制备供试品溶液,进样测定,计算得异海松酸的平均质量分数为 11.38 mg/g, RSD 为 2.13%。

2.9 加样回收率试验:取侧柏 V 号胶囊(批号 20050923)内容物细粉约 0.5 g(含异海松酸约 5.6 mg),精密称定,共 5 份,分别加入约 7.0 mg 异海松酸对照品,制备供试品溶液,进样测定,计算异海松

酸的质量分数。结果平均回收率为 95.8%, RSD 为 2.7%。

2.10 样品测定:取 3 种样品各 3 批,每批取样 5 份,制备供试品溶液,进样测定,采用外标法计算异海松酸的质量分数,结果见表 1。

表 1 侧柏叶及其胶囊中异海松酸的测定结果

Table 1 Determination of isopimaric acid in *P. orientalis* leaves and its capsules

样 品	异海松酸/(mg · g ⁻¹)
侧柏叶药材 1	3.09
2	3.20
3	3.56
侧柏 V 号胶囊 20050512	10.39
20050807	9.67
20050923	11.38
异海松酸胶囊 20050702	553.89
20050730	541.50
20050814	528.83

3 讨论

柱温对分离效果影响较大,25 $^{\circ}\text{C}$ 柱温在秋冬季很容易达到,在夏季就需要用可调至室温以下的柱温箱。该成分测定对柱温要求较高,而对酸性条件要求不高,2%冰醋酸水溶液可使保留时间提前,而用 3% 以上的冰醋酸水溶液可使保留时间延长至 8~12 min,效果较好。

供试品溶液的制备中考虑到样品处理方法由难到易依次为侧柏叶药材、醇提取物和异海松酸有效单体固体分散剂,因此实验主要解决了侧柏叶药材的处理。其他含有侧柏叶的复方或中成药的处理有待进一步研究。

References:

- [1] Cheng L F, Tian Y, He H. On the quality standard of *Platycladus orientalis* [J]. *China Pharm* (中国药房), 1995, 6 (3): 10-11.
- [2] Sharma S, Nogar V, Singh P. Diterpends from *Thuja orientalis* leaves [J]. *Fitoterapia*, 1993, 64(5): 476-477.

《中草药》投稿特别注意事项

1. 实验性论文需要单位介绍信(注明:论文内容真实,作者排名无争议,无一稿两投,无泄密)。
2. 创新性论文优先发表,新化合物免收版面费。
3. 图题、表题、图注、表注需中英文双语表示。
4. 文后参考文献译成英文。
5. 本刊不收审稿费,但刊用稿件要收取版面费。
6. 投稿时请留下联系方式(电话和 E-mail)。