

- [2] Wang Z P, Fan J Y, Liu Y Q, et al. Study on the comparison of resins adsorption and alcohol deposition of danshen extracted liquid [J]. *Ion Exchange Adsorpt* (离子交换与吸附), 2003, 19(6): 554-560.
- [3] Pan Y N, Yuan D, Fu W W, et al. Simultaneous determination of 4 water-soluble component in danshen-containing in-

jections by HPLC [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2004, 21(3): 196-200.

- [4] Li Q L, Jiang X M, Hong X J. Study on extracting technics of *Salvia miltiorrhiza* Bge. in Compound Danshen Injection [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(7): 617-618.

复方抗病毒喷雾剂的质量标准研究

黄亚东¹, 项 琪¹, 赵 文², 王林川³, 张 卉¹, 姚崇舜¹

(1. 暨南大学 医药生物技术研究开发中心, 广东 广州 510632; 2. 暨南大学药学院, 广东 广州 510632; 3. 华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510632)

笔者通过体外抗病毒实验筛选出了以贯叶连翘提取物和莪术油为主要成分并辅以其他中药的处方制备成复方抗病毒喷雾剂, 用于禽流感病毒的预防和治疗。为明确本复方喷雾剂的化学物质基础, 本实验对其中的莪术油和贯叶连翘提取物的主要药效成分进行了定性鉴别和定量测定。

1 仪器与试剂

日本岛津 LC-2010C 高效液相色谱仪、SPD-M10Avp 检测器(日本岛津公司), TGL-16G 台式离心机(上海安亭科学仪器厂), HH-2 数显恒温水浴锅(金坛市富华仪器有限公司), ZF 型紫外透射反射仪(上海嘉鹏科技有限公司)。

复方抗病毒喷雾剂和空白对照样品(自制, 25 mL/瓶), 莪术醇对照品(批号 100185-200405)、牻牛儿酮对照品(批号 111665-200401)购于中国药品生物制品检定所, 金丝桃素对照品购于中山大学药学院, 甲醇、乙腈(色谱纯), 薄层色谱硅胶 GF₂₅₄(上海谊恒工贸有限公司精良精细化工厂)。

2 薄层色谱鉴别

2.1 对照品溶液的制备: 分别取莪术醇、牻牛儿酮和金丝桃素对照品各约 5 mg, 精密称定, 置 5 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 即得。

2.2 供试品溶液的制备: 取本品 50 mL, 置分液漏斗中, 加石油醚(30~60 °C) 25 mL, 振摇, 静置, 分取石油醚层, 浓缩至约 1 mL, 作为供试品溶液 I。

取上述石油醚提取后的溶液 30 mL, 70 °C 水浴加热浓缩至约 2 mL, 加乙醇-醋酸乙酯(1:1) 4 mL

搅匀, 滤过, 取滤液, 作为供试品溶液 II。

2.3 莪术醇和牻牛儿酮的鉴别: 吸取供试品溶液 I、莪术醇对照品溶液和牻牛儿酮对照品溶液各 10 μL, 分别点于硅胶 GF₂₅₄ 板上, 以石油醚(30~60 °C)-醋酸乙酯(9:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外灯(254 nm)下检视, 显相同颜色的荧光斑点(图 1-A); 再喷以 1% 的香草醛硫酸试液, 在供试品色谱中分别在与对照品相应的位置上, 显相同颜色的斑点(图 1-B)。

2.4 金丝桃素的鉴别: 吸取供试品溶液 II 和金丝桃素对照品溶液各 10 μL, 分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 板上, 以甲苯-甲酸乙酯-甲酸(7:4:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外灯(254 nm)下检视, 结果供试品色谱中分别在与对照品相应的位置上显相同颜色的荧光斑点(图 1-C)。

3 金丝桃素、莪术醇和牻牛儿酮的测定

3.1 色谱条件: 色谱柱: Shimadzu Shim-pack VP-ODS (150 mm × 4.6 mm), Shimadzu Shim-pack GVP-ODS (10 mm × 4.6 mm) 保护柱; 莪术醇和牻牛儿酮: 流动相: 乙腈-H₂O (60:40), 柱温: 25 °C, 检测波长: 210 nm, 体积流量: 1.0 mL/min, 色谱图见图 2。金丝桃素: 流动相为乙腈-0.3% 正磷酸-三乙胺 (pH 6.0)-甲醇 (80:9:11), 柱温: 25 °C, 检测波长: 590 nm, 体积流量: 1.2 mL/min, 色谱图见图 3。

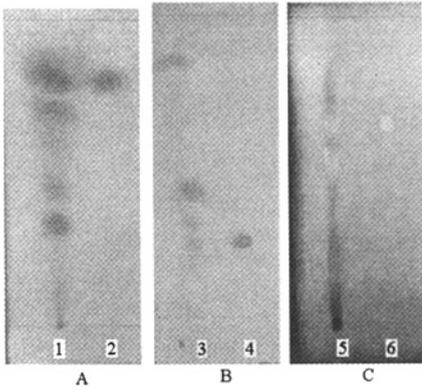
3.2 标准曲线的制备: 精密吸取各对照品溶液 0.25、0.40、0.50、0.60、0.80 mL 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度。0.45 μm 滤膜滤过, 吸取滤液 20 μm 注入

收稿日期: 2006-09-03

基金项目: 广东省科技计划攻关项目(20042080068); 广州市科技计划攻关项目(2006Z3-E0501)

作者简介: 黄亚东(1971—), 男, 湖北人, 副研究员, 博士, 研究方向为微生物与生化药学。

Tel: (020)85564387 E-mail: ydhuang2004@126.com



2-牻牛儿酮对照品 4-莪术醇对照品 6-金丝桃素对照品
1,3,5-复方抗病毒喷雾剂

2-germacrone reference substance 4-curcumenol
reference substance 6-hypericin reference
substance 1,3,5-Compound Anti-virus Spray

图 1 复方抗病毒喷雾剂的 TLC 图

Fig. 1 TLC Chromatograms of Compound
Anti-virus Spray

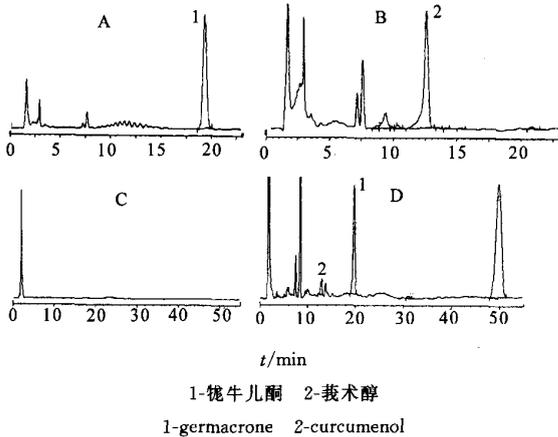


图 2 牻牛儿酮对照品(A)、莪术醇对照品(B)、阴性对照
(C)和复方抗病毒喷雾剂(D)的 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC Chromatogram of germacrone reference
substance (A), curcumenol reference sub-
stance (B), negative sample (C), and
Compound Anti-virus Spray (D)

高效液相色谱仪,记录色谱图,以质量浓度对峰面积得
计算回归方程,数据由 SPSS 软件处理。莪术醇: $Y = 9810.3 X - 29096$, $R^2 = 0.9996$, 线性范围为
10.40~31.20 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 牻牛儿酮: $Y = 2942.3 X + 3049.8$, $R^2 = 0.9989$, 线性范围为 11.00~33.00
 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 金丝桃素: $Y = 53162 + 2276.4 X$, $R^2 = 0.9998$, 线性范围为 1.05~5.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

3.3 精密度试验:精密吸取各对照品溶液 1 mL 置
10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,0.45 μm 滤膜滤

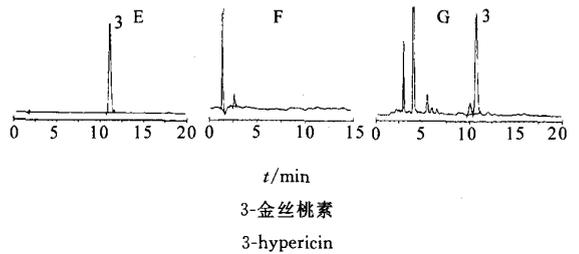


图 3 金丝桃素对照品(E)、阴性对照样品(F)和复方
抗病毒喷雾剂(G)的 HPLC 色谱图

Fig. 3 HPLC Chromatogram of hypericin reference
substance (E), negative sample (F), and
Compound Anti-virus Spray (G)

过,吸取滤液 20 μL 注入高效液相色谱仪,重复操作
5 次,记录峰面积,由回归曲线计算莪术醇、牻牛儿
酮和金丝桃素的质量浓度,计算 RSD 值分别为
2.28%、0.75%、2.02%。

3.4 重现性试验:称取同一批样品 5 份,制备供试
品溶液,进样 20 μL ,测定峰面积并分别计算莪术
醇、牻牛儿酮和金丝桃素的质量浓度,计算 RSD 值
分别为 1.49%、0.94%、2.56%。

3.5 稳定性试验:精密吸取同一样品溶液,制备供
试品溶液,分别在制备后 0、2、5、10 d 进样 20 μL 测
定莪术醇、牻牛儿酮和金丝桃素色谱峰峰面积,计算
对应的质量浓度,计算得 RSD 值分别为 2.85%、
1.09%、2.18%,表明供试品溶液在 10 d 内稳定。

3.6 加样回收率试验:精密吸取复方抗病毒喷雾剂
0.5 mL 置 25 mL 量瓶中,精密加入莪术醇对照品
25 μg 、牻牛儿酮对照品 50 μg 和金丝桃素对照品 10
 μg ,加甲醇稀释至刻度,0.45 μm 滤膜滤过,制备供
试品溶液,进样测定,计算得加样回收率分别为
100.9%、98.56%、97.65%,RSD 值分别为 1.78%、
3.68%、2.98%。

3.7 样品测定:精密吸取复方抗病毒喷雾剂样品溶
液 2 mL 置 50 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,0.45
 μm 滤膜滤过,吸取滤液 20 μL 注入高效液相色谱
仪,记录色谱峰,采用回归曲线方程计算莪术醇、
牻牛儿酮的质量浓度,结果见表 1。

精密吸取复方抗病毒喷雾剂样品溶液 10 mL,
以醋酸乙酯-正庚烷 40 mL 分 3 次提取,合并提取
液,减压浓缩至干,加 1 mL 流动相复溶,0.45 μm
微孔滤膜滤过,吸取滤液 20 μL 注入高效液相色谱
仪,记录色谱峰,采用回归曲线方程计算金丝桃素的
质量浓度,结果见表 1。

4 讨论

莪术油葡萄糖注射液在临床广泛用于病毒导致

表 1 复方抗病毒喷雾剂中 3 个成分的测定结果 ($n=3$)
Table 1 Determination of three components in Compound Anti-virus Spray ($n=3$)

批号	莪术醇/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	牻牛儿酮/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	金丝桃素/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
1	499.8	728.1	0.381 2
2	507.5	774.5	0.352 8
3	513.9	776.9	0.390 1

的上呼吸道感染的治疗,贯叶连翘提取物中的金丝桃素已被确证具有显著的抗禽流感病毒功效。笔者在抗病毒中药初步筛选中发现莪术油和贯叶连翘提取物具有较理想的抗病毒作用,二者合用抗病毒效力有加强的趋势。通过不同浓度的处方筛选,确定了二者配伍的最佳剂量,再辅以其他清热解毒类的中药组合成一种新的抗病毒喷雾剂。

对莪术油及其制剂的定量分析已有很多报道^[1,2]。《中国药典》2005 年版一部莪术油项下采用牻牛儿酮作为指标成分进行质量控制,但莪术油的抗病毒药效成分主要为莪术油,而且在实验中发现样品外观颜色变化时测得的牻牛儿酮的量变化不大,但莪术醇的量变化较为明显。如果单用牻牛儿酮

对样品进行质量控制难以有效控制产品的质量。因此在复方喷雾剂的质量控制上对二者均进行了定量分析,结果较为理想。

贯叶连翘提取物中金丝桃素是最具生物活性的物质,但量甚微,给定量检测带来了一定的难度。目前其定量测定方法有分光光度法、薄层扫描法和 HPLC-荧光检测法等^[3,4]。本实验建立的 HPLC-可见光检测法采用常规二极管检测器,简单快捷,具有一定的优势。

References:

- [1] Wu Y C, Liu T Y, Jiang L G, et al. Determination of the germacron and curcumenol in Zedoary Turmeric Oil by RP-HPLC [J]. *Inf Tradit Chin Med* (中医药信息), 2004, 21 (4): 64.
- [2] You J, Yu Y W, Li Q P, et al. Determination of Zedoary turmeric oil microsphere [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2005, 27(1): 25.
- [3] Wen P H, Wang X L, Zhang Y N, et al. Determination of hypericin from *Hypericum perforatum* L. by TLC-Spectrophotometry [J]. *Appl Chem Ind* (应用化工), 2000, 29 (3): 30.
- [4] Liu W D. Summarizer of extractions and quantity assays about hypericin from *Hypericum perforatum* L. [J]. *Qilu Pharm Aff* (齐鲁药事), 2004, 23(3): 40.

HPLC 法测定三拗汤不同煎液中苦杏仁苷

杨 翀^{1,4}, 梁光义^{1,2*}, 周静宜¹, 徐必学¹, 柴 立³

- (1. 贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵州 贵阳 550002; 2. 贵阳中医学院, 贵州 贵阳 550002;
3. 贵州宏宇药业有限公司, 贵州 贵阳 550002; 4. 贵阳医学院, 贵州 贵阳 550004)

三拗汤原名还魂汤,出自张仲景《金匱要略》,由麻黄、杏仁、甘草 3 味中药组成,宣肺解表,主治感冒风邪,鼻塞声重,语音不出,咳嗽胸闷^[1]。分煎法与合煎法制备对中药复方汤剂有效成分和药理作用的影响一直是中医药理论和临床实践中值得探讨的课题,特别是近年来单味中药精制颗粒逐渐在临床上推广应用,更引起对这一课题研究的兴趣。本实验比较了三拗汤用合煎法与分煎法制得的汤剂中苦杏仁苷的差异,以探索中药复方汤剂不同制法对其有效成分溶出量的影响,对单味中药精制颗粒应用于临床提供依据。

1 仪器、药材与试剂

美国惠普 HP1100 型高效液相色谱仪, DAD 检

测器, HP1100/WIND3D 化学工作站, EYELA FDU-1100 冷冻干燥机。

草麻黄 *Ephedra sinica* Stapf (河北)、杏仁 *Prunus armeniaca* L. (贵州)、甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. (内蒙古) 药材饮片经贵阳中医学院何顺志教授鉴定。

苦杏仁苷对照品(批号 820-200002, 中国药品生物制品检定所); 甲醇、乙腈(色谱纯); 水(重蒸水)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Hypersil C₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) (大连依利特科学仪器有限公司); 流动相: 甲醇-乙腈-水 (16 : 4 : 80); 体积流

收稿日期: 2006-08-08

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30460154)

作者简介: 杨翀 (1976—), 男, 四川人, 讲师, 硕士, 主要从事中药及复方化学成分分析及新药研制。

* 通讯作者 梁光义 Tel: (0851) 5652109 E-mail: guangyi_liang@21cn.com

复方抗病毒喷雾剂的质量标准研究

作者: [黄亚东](#), [项琪](#), [赵文](#), [王林川](#), [张卉](#), [姚崇舜](#)

作者单位: [黄亚东, 项琪, 张卉, 姚崇舜\(暨南大学, 医药生物技术研究开发中心, 广东, 广州, 510632\)](#), [赵文\(暨南大学药学院, 广东, 广州, 510632\)](#), [王林川\(华南农业大学兽医学院, 广东, 广州, 510632\)](#)

刊名: [中草药](#) **ISTIC** **PKU**

英文刊名: [CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)

年, 卷(期): 2007, 38 (6)

被引用次数: 2次

参考文献(4条)

1. [Wu Y C;Liu T Y;Jiang L G](#) [Determination of the germacrone and curcumenol in Zedoary Turmeric Oil by RPHPLC](#) 2004(04)
2. [You J;Yu Y W;Li Q P](#) [Determination of Zedoary turmeric oil microsphere](#)[期刊论文]-[中成药](#) 2005(01)
3. [Wen P H;Wang X L;Zhang Y N](#) [Determination of hypericin from Hypericum perforatum L. by TLC-Spectrophotometry](#)[期刊论文]-[应用化工](#) 2000(03)
4. [Liu W D](#) [Summarizer of extractions and quantity assays about hypericin from Hypericum perforatum L](#) 2004(03)

引证文献(2条)

1. [刘凡凡](#), [莫涉东](#), [辛宁](#) [中药喷雾剂的研究进展](#)[期刊论文]-[中成药](#) 2009(8)
2. [张慧](#), [牛阳](#) [中药喷雾剂用于空气消毒的研究进展](#)[期刊论文]-[光明中医](#) 2011(10)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200706019.aspx