

苷符合一级动力学过程,当水温超过 80 ℃ 时,黄芩的内源酶已被灭活,黄芩苷的含量不再降低。实验所用的药材为黄芩的生品,文献中所选择的药材可能是炮制品,因此,笔者将继续对黄芩的生品和各种炮制品的酶活性进行系统研究,为黄芩的炮制工艺研究提供参考。

在实际生产中,药材投料量大,以水为溶媒提取药材时,升温缓慢,缓慢的升温过程容易造成黄芩苷的降解,因而黄芩药材宜在 80 ℃ 以上投料,或者将黄芩药材预先进行炮制,使黄芩的内源酶灭活后再进行煎煮,从而保证黄芩苷的提取率。

黄芩苷是葡萄糖醛酸苷类,由于空间位阻效应, H^+ 不易进攻糖苷键,使其比较难于酸水解,即使在剧烈酸水解条件下也只能使部分苷水解。本实验发现通过黄芩的内源酶催化水解作用,可将药材中的黄芩苷全部降解,产生大量的黄芩素。因此,黄芩的内源酶催化降解黄芩苷为生产黄芩素提供一种可选择的途径。

参考文献:

- [1] 中国药典[S].一部.2005.
- [2] 肖崇厚.中药化学[M].北京:人民卫生出版社,1984.
- [3] 李晓芳,傅军,金描真,等.黄芩水提取工艺中黄芩苷降解动力学研究[J].现代食品和药品研究杂志,2006,16(4):27-29.

固相萃取-高效液相色谱法测定青银注射液中蒿酮

何兵,田吉,李春红,冯文宇*

(泸州医学院药学院 药物研究所,四川 泸州 646000)

摘要:目的 建立固相萃取-高效液相色谱法测定青银注射液中蒿酮的分析方法。方法 采用高效液相色谱法测定。色谱柱为 Dikma Kromasil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(75:25);检测波长:242 nm;柱温:30 ℃;体积流量:0.8 mL/min;进样量:10 μL。供试品溶液的制备采用 C₁₈固相萃取小柱(甲醇 10 mL 活化,水 10 mL 平衡),用 50%甲醇洗脱,弃去洗脱液,再用甲醇洗脱。结果 蒿酮在 0.220 5~3.527 2 μg 具有良好的线性关系($r=0.999\ 9$),平均回收率为 98.28%,RSD 为 0.35%。结论 该方法简便、快速、准确,具有良好的重复性和回收率,可作为青银注射液中蒿酮的定量分析方法。

关键词:青银注射液;蒿酮;高效液相色谱;固相萃取

中图分类号:R286.02 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2009)03-0400-03

青银注射液是我所研究的中药新药,是由青蒿油和金银花提取物组成的中药注射剂,具有宣肺透邪,清热解毒之功效,临床用于外感高热证所致的高热、微恶风寒、汗泄不畅、头痛、咳嗽、痰粘、咽燥或咽喉红肿疼痛及上呼吸道感染、急性肺部感染等。青蒿油中主要有效成分为蒿酮(45%)和樟脑(12%)^[1]。原质量标准是采用气相色谱法测定樟脑^[2]。本实验尝试采用高效液相色谱法测定其中的蒿酮,结果该方法简单快速,重现性好,可作为该制剂中蒿酮的定量分析方法。

1 仪器与试剂

戴安高效液相色谱仪(P680A 四元低压梯度泵,PDA-100 二极管阵列检测器,TCC-100 柱温箱,Chromeleon 色谱工作站);瑞士 Precisa XR 205SM-DR 电子天平。HSE-12 固相萃取装置

(天津恒奥科技发展有限公司);Besep SPE C₁₈ 固相萃取小柱(500 mg/6 mL)。

青银注射液(自制,规格:10 mL/支);蒿酮对照品(Sigma-Aldrich 公司提供,批号:053989/1,质量分数大于 98.0%);乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为重蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:色谱柱为 Dikma Kromasil C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水(75:25);检测波长:242 nm;柱温:30 ℃;体积流量:0.8 mL/min;进样量:10 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液的制备:精密吸取蒿酮对照品 0.5 mL,精密称定为 0.440 9 g,加甲醇稀释 5 000 倍制成质量浓度为 88.18 μg/mL 的溶液,作为蒿酮

* 收稿日期:2008-06-28

基金项目:“九五”国家科技攻关项目(96-901-05-20)

作者简介:何兵(1978-),男,四川泸州人,助理研究员,理学学士,主要从事新药质量标准研究工作。

Tel:13982770721 E-mail:lyhb2008@126.com

对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备:精密吸取本品 1 mL,过预处理好的 C_{18} 固相萃取小柱(甲醇 10 mL 活化,水 10 mL 平衡),用 50% 甲醇 5 mL 洗脱,弃去洗脱液,再用甲醇 4 mL 洗脱,收集洗脱液,定容到 5 mL,摇匀,即得。

2.2.3 阴性对照溶液的制备:取按处方比例及制备工艺制得不含青蒿油的阴性对照样品,按供试品溶液的制备项下方法制成阴性对照溶液。

2.3 系统适应性及阴性对照试验:分别精密吸取对照品溶液、供试品溶液和缺青蒿油的阴性对照溶液各 10 μ L,注入高效液相色谱仪,记录色谱图,结果见图 1。可见,蒿酮的保留时间约为 9.5 min,与相邻色谱峰的分度大于 1.5,拖尾因子为 1.05,理论塔板数以蒿酮峰计为 17 699,蒿酮峰质量分数因子为 1 000,阴性对照在蒿酮峰处无干扰,即本试验条件下蒿酮与其他组分分离完全。

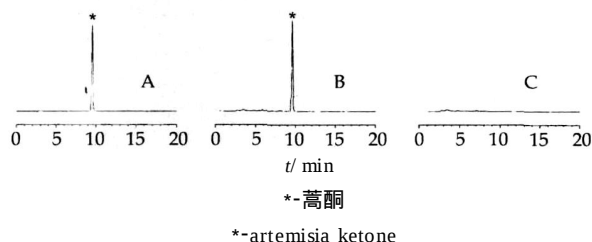


图 1 蒿酮对照品(A)、青银注射液(B)和阴性对照(C)的 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC Chromatograms of artemisia ketone reference substance (A), Qingyin Injection (B), and negative sample (C)

2.4 线性关系考察:分别精密吸取 88.18 μ g/mL 蒿酮对照品溶液 2.5、5、10、15、20、40 μ L 注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定峰面积。以峰面积(Y)对进样量(X)进行线性回归,得标准曲线方程 $Y = 108.4395X - 0.7350$, $r = 0.9999$ 。结果表明,蒿酮在 0.2205 ~ 3.5272 μ g 时,峰面积与进样量有良好的线性关系。

2.5 精密度试验:取本品供试品溶液(批号:070912),重复进样 6 次,测定蒿酮峰面积,计算得其 RSD 为 0.36%。

2.6 稳定性试验:取本品供试品溶液(批号:070912),室温下放置,分别于制备后 0、4、8、12、24、36 h 进样测定,测定蒿酮峰面积,计算得其 RSD 为 0.58% ($n = 6$),表明供试品溶液在 36 h 内稳定。

2.7 重现性试验:取同一批样品(批号:070912)6 份,平行制备供试品溶液,分别进样测定峰面积,计

算蒿酮质量浓度,结果蒿酮的平均质量浓度为 0.5286 mg/mL, RSD 为 0.45% ($n = 6$)。

2.8 回收率试验:精密量取含蒿酮 0.5286 mg/mL 的本品(批号:070912)9 份,每份 1 mL,分成 3 组,每组 3 份,分别精密添加 0.1764 mg/mL 蒿酮对照品溶液 2、3、4 mL,制备供试品溶液,进样测定,并计算回收率,结果平均回收率为 98.28%, RSD 为 0.35%。

2.9 样品的测定:取不同批次青银注射液制备供试品溶液。分别精密吸取蒿酮对照品溶液和供试品溶液各 10 μ L,进样测定,记录蒿酮的峰面积,采用外标法计算蒿酮的质量浓度,结果见表 1。

表 1 青银注射液中蒿酮的测定结果($n = 3$)

Table 1 Determination of artemisia ketone in Qingyin Injection ($n = 3$)

批号	蒿酮/(mg·支 ⁻¹)	RSD/%
070912	5.29	0.21
070918	5.68	0.35
070926	4.91	0.27

3 讨论

采用二极管阵列检测器在 190 ~ 380 nm 分别扫描蒿酮对照品溶液和青银注射液中的蒿酮峰,结果二者均在 241.7 nm 有最大吸收,故检测波长选择 242 nm。

青银注射液是由青蒿油和金银花提取物组成的复方制剂,其主要有效成分为青蒿油、绿原酸、异绿原酸及其异构体,由于绿原酸类在 242 nm 处仍有较强吸收,且量较高,若不分离掉这部分有机酸,将在 2.5 ~ 5 min 出一超出量程的色谱杂峰,并导致基线严重漂移。故采用 HPLC 测定青银注射液中蒿酮时需先除去绿原酸类,由于绿原酸类和蒿酮极性相差较大,故考虑用 SPE 分离除去绿原酸类,结果样品经过 SPE 处理后,绿原酸类基本除尽,回收率也较高。

实验中曾考察洗脱溶液的甲醇体积分数。经实验得知,采用 5 mL 50% 甲醇溶液能将绝大部分绿原酸类洗脱下来,而未能将蒿酮洗脱下来,再加以 5 mL 60% 甲醇溶液能将部分的蒿酮洗脱下来,而 5 mL 80% 甲醇溶液则可将剩余的蒿酮完全洗脱下来,再加 5 mL 90% 的甲醇,洗脱液中已无蒿酮。但为保证完全洗脱,避免对下一样品干扰,实验采用 5 mL 纯甲醇洗脱。

SPE C_{18} 小柱有 100 mg/1 mL、200 mg/3 mL、500 mg/6 mL 规格。实验考察了 200 mg/3 mL、

500 mg/6 mL 对蒿酮测定的影响,结果采用 200 mg/3 mL 小柱时,供试品的回收率只有 93.86%,而采用 500 mg/6 mL 小柱时,回收率达到 98.28%。可见,SPE 小柱的吸附容量会影响蒿酮测定结果的准确性。可能是由于样品中绿原酸类和杂质的竞争性吸附导致蒿酮在 200 mg/3 mL 小柱上吸附不完全,而 500 mg/6 mL 小柱由于吸附容量增大,能够完全吸附蒿酮,所以后者的回收率要明显高于前者。

实验采用 HPLC 测定青银注射液中蒿酮,该法准确可靠,精密度好,具有良好的重现性和回收率,可用于该制剂中蒿酮的质量控制。

参考文献:

- [1] 田吉,冯文宇,何兵.青蒿及其制剂的挥发性成分分析[J].时珍国医国药,2007,18(8):1840-1842.
- [2] 邱华荣,田吉,冯文宇,等.青银注射液中绿原酸与樟脑的含量测定[J].中成药,2004,26(8):621-623.

复方丹参缓释胶囊在犬体内的药动学研究

李丹^{1,2},宋洪涛^{1*},初阳³,陈大为⁴,何仲贵⁴

(1.南京军区福州总医院 药学科,福建 福州 350025;2.沈阳医学院奉天医院 药剂科,辽宁 沈阳 110024;

3.中国医科大学附属第一医院 药剂科,辽宁 沈阳 110001;4.沈阳药科大学药学院,辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 考察复方丹参缓释胶囊在犬体内的药效动力学。方法 采用多元定时释药技术制备复方丹参缓释胶囊,以血小板聚集抑制率为评价指标,以市售复方丹参片为参比制剂,对自制复方丹参缓释胶囊进行犬体内药效动力学研究。结果 犬单剂量口服给药后,复方丹参缓释胶囊的效应峰值(E_{max})为 18.62%,效应达峰时间(t_{max})为 8 h,效应半衰期($t_{1/2}$)为 2.40 h,平均效应滞留时间(MRT)为 8.11 h;而市售复方丹参片的 E_{max} 为 44.34%, t_{max} 为 3.5 h, $t_{1/2}$ 为 1.54 h,MRT 为 4.57 h。结论 与复方丹参片相比,复方丹参缓释胶囊的药效更加温和而持久,达到了预期的缓释效果。

关键词:复方丹参缓释胶囊;药动学;血小板聚集抑制率

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2009)03-0402-03

复方丹参片由丹参、三七和冰片组成,具有活血化瘀、理气止痛之功效,临床广泛用于冠心病等心血管疾病的防治,疗效确切^[1]。将复方丹参片的处方药材提取精制后采用多元定时释药技术制备成的复方丹参缓释胶囊可使制剂中理化性质不同的各成分在缓释的同时达到同步释放,遵循了中药制剂复方配伍的整体观和用药思想。为考察复方丹参缓释胶囊的体内情况,本实验以血小板聚集率为评价指标,以市售复方丹参片为参比制剂,对复方丹参缓释胶囊进行了家犬体内药动学研究。

1 仪器与试剂

SC-2000 型血小板聚集测试仪(北京赛科希德科技发展有限公司),DT5-5 型离心机(北京医用离心机厂),ST 型一次性使用真空采血管(北京积水创格医疗科技有限公司),一次性使用静脉血样采血针(苏州林华医疗器械有限公司),ZRD6-A 型药物

溶出度仪(上海黄海药检仪器厂),LC-10A 型高效液相色谱仪(日本岛津公司),UV-9100 型紫外可见分光光度计(北京瑞利分析仪器公司),GC-9A 型气相色谱仪(日本岛津株式会社)。

复方丹参缓释胶囊(自制),复方丹参片(批号 C7A006,广州白云山制药有限公司),二磷酸腺苷试剂(ADP,北京赛科希德科技发展有限公司),甲醇、乙腈为色谱纯,其他试剂为分析纯。

家犬,6 只,雌雄各半,体质量(15 ± 1.5) kg,由沈阳军区总医院动物实验科提供。

2 方法与结果

2.1 复方丹参缓释胶囊中丹酚酸 B、三七总皂苷和冰片的体外释放曲线:在模拟人体胃肠道 pH 值变化条件下,分别采用高效液相色谱法、紫外分光光度法和气相色谱法测定复方丹参缓释胶囊中丹酚酸 B、三七总皂苷和冰片的体外释放度^[2],结果见图 1。

* 收稿日期:2008-08-15

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30200363);福建省自然科学基金资助项目(2006J0116)

作者简介:李丹(1976—),女,辽宁省抚顺市人,硕士,主管药师,跟从导师主要从事药剂学方面的研究。

Tel:(024)81309455 E-mail:lidanjerry@126.com

* 通讯作者 宋洪涛 Tel:(0591)22859459 Fax:(0591)83712298 E-mail:sohoto@vip.sohu.com