

水平式离心机效果较好,且离心速度及时间对微型凝胶柱的分离能力有很大影响,转速过低则醇质体的洗脱速度较慢,稀释倍数增大,造成药物的泄露;转速过高则容易引起凝胶柱的断裂而导致分离效果不好。经实验证实,3 000 r/min 离心 3 min 能够达到理想的分离效果。

洗脱游离药物过程中,为加快速率,将洗脱体积加大至每次 0.5 mL,既节约了时间又达到了较好的分离效果。

参考文献:

- [1] 杨显志,邵华. 鬼臼毒素资源研究现状[J]. 中草药, 2001, 32(11): 1042-1044
- [2] 吕晶晶,陈虹,曹波,等. 鬼臼毒素衍生物 CIP-36 诱导 KBV200 细胞凋亡[J]. 药物评价研究, 2010, 33(4): 256-261
- [3] 朱学俊,孔繁荣,王家璧,等. 0.5% 鬼臼毒素酊治疗尖锐湿疣

- 1839 例疗效观察[J]. 中华皮肤科杂志, 1996, 29(3): 218
- [4] Strand A, Wilander E, Zehbe I, et al. High risk HPV persists after treatment of genital papillomavirus infection but not after treatment of cervical intraepithelial neoplasia [J]. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 1997, 76(2): 140-144
- [5] Paolino D, Lucania G, Mardente D, et al. Ethosomes for skin delivery of ammonium glycyrrhizinate: *in vitro* percutaneous permeation through human skin and *in vivo* anti-inflammatory activity on human volunteers [J]. *J Controlled Release*, 2005, 106(1-2): 99-110
- [6] 李志浩,李鹏,朱雪松. 藁本内酯脂质体制备工艺的研究[J]. 中草药, 2010, 41(4): 564-568
- [7] 郭波红,程怡,林绿萍. 甘草次酸脂质体的制备及其药剂学性质的研究[J]. 中草药, 2010, 41(3): 380-383
- [8] 高晓非,邓英杰,曹金娜,等. 微柱离心-HPLC法测定六甲蜜胺脂质体包封率[J]. 药物分析杂志, 2009, 29(2): 247-249
- [9] 王秀敏,邓英杰,郝艳丽,等. 微柱离心-气相色谱法测定β-榄香烯脂质体包封率[J]. 沈阳药科大学学报. 2004, 21(6): 416-419

银杏内酯注射液的 HPLC 指纹图谱研究

章晨峰^{1,2}, 付小环², 毕宇安², 尚强², 王振中², 盛龙生^{1*}

(1 中国药科大学, 江苏 南京 210009; 2 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001)

摘要:目的 建立银杏内酯注射液的合适质量控制方法。方法 采用 HPLC/ELSD 法, 指纹图谱相似度用中药色谱指纹图谱相似度评价系统(版本 2004A)计算。结果 10 批注射液的指纹图谱相似度均大于 0.95, 确定了 4 个共有峰, 建立了该注射液的指纹图谱。结论 本法可作为银杏内酯注射液的质量控制方法。

关键词: 银杏内酯注射液; 指纹图谱; HPLC/ELSD

中图分类号: R286.02 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)10-1637-03

HPLC Fingerprint of Ginkgolide Injection

ZHANG Chenfeng^{1,2}, FU Xiaohuan², BI Yuran², SHANG Qiang², WANG Zhenzhong², SHENG Longsheng¹

(1. China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China; 2. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China)

Abstract: Objective To establish the proper quality control method for Ginkgolide Injection. **Methods** The Ginkgolide Injection was analyzed by using HPLC/ELSD technology. The similarity of fingerprints was calculated by the *Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of Chinese Traditional Medicine* (Version 2004A). **Results** Similarity of ten batches of injections was all over 0.95. The fingerprint for Ginkgolide Injection was established and four common peaks were indicated. **Conclusion** This method is suitable for the quality control of Ginkgolide Injection.

Key words: Ginkgolide Injection; fingerprint; HPLC/ELSD

银杏内酯是银杏叶中含有的一组具有较强生物活性的萜类化合物, 已分离得到的包括银杏内酯

①收稿日期: 2010-04-15

基金项目: 国家 863 计划课题(2002AA2Z3215, 2005AA2Z3E60)

作者简介: 章晨峰(1976—), 男, 江西抚州市人, 工程师, 博士, 主要从事中药质量控制方法研究。

Tel: (0518)85521955 E-mail: zhangchenf@163.com

* 通讯作者 盛龙生 Tel: (025)83307338 E-mail: shenglsh@yahoo.com.cn

(ginkgolide) A, B, C, J, M, K, L 和白果内酯(bilobalide)^[1-3], 研究发现它们是很强的血小管活化因子(PAF)拮抗剂^[4], 具有较好的应用前景。国外已有 BN52063(银杏内酯混合物) 和 BN52021(银杏内酯 B) 进入临床试验阶段^[5]。银杏内酯注射液是以银杏总内酯为原料制成的注射液, 用于治疗缺血性中风。内酯类化合物的一个特征是在碱性条件下开环生成酸(羧酸型), 与碱成盐; 开环化合物在酸性条件下又闭合成为内酯(内酯型)。现有的注射剂中银杏内酯质量控制方法, 在供试品溶液制备过程中主要采用酸化后提取银杏内酯的方法^[6-8], 不能反映注射剂中银杏内酯的实际存在状态。指纹图谱在中药的质量控制方面优势显著^[9-10]。为了更好的控制银杏内酯注射液的质量, 本实验对银杏内酯注射液指纹图谱进行了研究。

1 仪器与试药

高效液相色谱仪(Agilent 1100), 配自动进样器, 双泵, 柱温箱; 蒸发光检测器(Alltech 2000); 电子分析天平(Mettler AE240)。

银杏内酯注射液(25 mg/ 5 mL, 江苏康缘药业股份有限公司); 银杏内酯 B(中国药品生物制品检定所, 批号 110863- 200305); 甲醇、异丙醇(色谱纯, 美国天地公司); 乙酸铵、乙酸(分析纯, 南京化学试剂有限公司); 水(超纯水)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Thermo Hypersil ODS 色谱柱(250 mm× 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇- 50 mmol/L 乙酸铵水溶液(10: 90), 加乙酸调 pH 值为 7; 柱温 30℃; 气体流速 2.5 L/min; 漂移管温度 110℃; 进样量 10 μL。

2.2 参照物溶液制备方法: 取银杏内酯 B 对照品适量, 精密称定, 加 5% 的葡甲胺溶液加热(70℃) 使溶解, 滤过, 取续滤液, 制成 0.5 mg/mL 的溶液, 即得。

2.3 供试品溶液制备方法: 取银杏内酯注射液直接进样。

2.4 阴性样品溶液制备方法: 除银杏总内酯原料外, 按注射液处方和制备工艺制成 100 mL 阴性样品。

2.5 阴性样品的影响: 取阴性样品溶液, 注入液相色谱仪, 记录 40 min 色谱图, 结果在保留时间 5 min 前有多个峰出现, 故选择中药指纹图谱相似度评价系统(版本 2004A) 处理图谱时, 将 5 min 前峰扣除。

2.6 记录时间的确定: 取供试品溶液, 注入液相色谱仪, 记录 60 min 色谱图, 结果后 20 min 未见峰出现, 故记录时间确定为 40 min。

2.7 方法学考察

2.7.1 精密度试验: 取批号为 060525 的供试品溶液, 连续进样 6 次测定, 结果表明, 供试液中各共有峰的相对保留时间及主要峰的相对峰面积的 RSD 小于 3%。

2.7.2 稳定性试验: 取批号为 060525 的供试品溶液, 分别于 0、2、4、6、12 h 测定, 结果表明, 供试品溶液中各共有峰的相对保留时间及主要峰的相对峰面积的 RSD 小于 3%。

2.7.3 重复性试验: 取批号为 060525 的供试品溶液五份, 分别测定, 结果表明, 供试液中各共有峰的相对保留时间及主要峰的相对峰面积的 RSD 小于 3%。

2.8 对照指纹图谱的建立与相似度分析: 取 10 批银杏内酯注射液和参照物溶液进行指纹图谱的测定, 把 10 批注射液色谱图导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统(版本 2004A), 选择时间窗 0.1, 生成色谱的方法为平均值, 对保留时间 5~ 40 min 的色谱峰进行自动匹配, 匹配后色谱图见图 1, 生成的注射液对照指纹图谱见图 2, 有 4 个共有峰(1~ 3 和 S), 其中 S 为银杏内酯 B 参照峰, 1 号峰为银杏内酯 A。各批注射液与对照指纹图谱比较相似度在 0.977~ 0.994, 平均值为 0.985, RSD 为 0.48%, 见表 1。

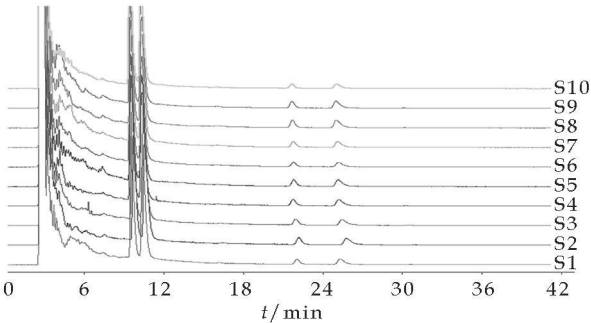


图 1 10 批样品匹配后的色谱图

Fig 1 Matched chromatograms for ten batches of samples

表 1 10 批注射液与注射液对照指纹图谱比较的相似度

Table 1 Similarity of fingerprint between ten batches of injections and reference Ginkgolide Injection

批号	相似度	批号	相似度
060413	0.984	060720	0.988
060421	0.977	060818	0.982
060511	0.989	060906	0.984
060525	0.994	061112	0.982
060607	0.983	070103	0.988

3 讨论

色谱柱的选择: 选用了 3 根不同厂家生产的 3

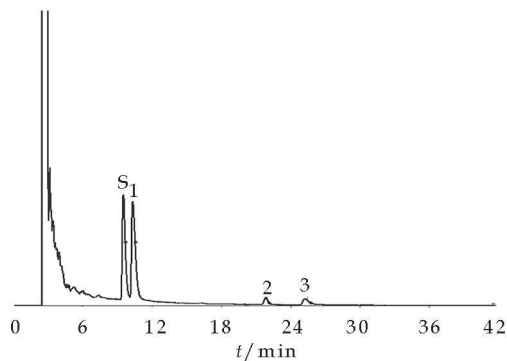


图2 银杏内酯注射液的对照指纹图谱

Fig 2 HPLC Reference fingerprint of Ginkgolide Injections

种色谱柱, Thermo Hypersil ODS (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) (美国 Thermo Hypersil-Keystone 公司); Luna C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) (美国 Phenomenex 公司); Zorbax SB C₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) (美国 Agilent 公司) 进行实验筛选, 比较分离度、峰型和柱效, 结果 Thermo Hypersil ODS (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱较为适合。

流动相的选择: 选用不同比例的水/甲醇/四氢呋喃体系和异丙醇/水体系洗脱, 峰分离度不好; 用

不同比例的水/甲醇体系洗脱, 分离度和峰型不佳; 故选用甲醇/乙酸铵水溶液体系为流动相, 经试验确定了溶剂比例, 峰型、分离度、柱效均满意。

参考文献:

- [1] Van Beek T A. Ginkgolides and bilobalide: Their physical, chromatographic and spectroscopic properties [J]. *Bioorg Med Chem*, 2005, 13: 5001-5012.
- [2] 楼凤昌, 凌 娅, 唐于平, 等. 银杏萜内酯的分离、纯化和结构鉴定[J]. *中国天然药物*, 2004, 2(1): 11-15.
- [3] 徐艳芬, 张丽娟, 宋新波. 银杏叶提取物的研究进展[J]. *药物评价研究*, 2010, 33(4): 298-302.
- [4] Braquet P. The ginkgolides: Potent platelet activating factor antagonists isolated from *Ginkgo biloba* L.: chemistry, pharmacology and clinical applications [J]. *Drugs Future*, 1987, 12(7): 643-699.
- [5] 张中朋, 刘秀芬. 银杏叶提取物发展概述[J]. *中药研究与信息*, 2005, 7(2): 38-40.
- [6] 戴翔翎, 凌 娅, 施 炜, 等. HPLC-ELSD 法测定注射用银杏内酯中银杏内酯 A 与银杏内酯 B 的含量[J]. *南京中医药大学学报*, 2005, 21(1): 22-23.
- [7] 毕雨萌, 孙国祥, 于秀明. HPLC-ELSD 法测定银杏达莫注射液中的萜类内酯的含量[J]. *中南药学*, 2007, 5(2): 124-127.
- [8] 陈香爱, 袁志芳, 张兰桐. HPLC 法测定银杏叶粉针中总黄酮醇苷和萜类内酯[J]. *中草药*, 2008, 38(9): 1333-1335.
- [9] 任子瑜, 秦雪梅, 薛黎明, 等. 黄芩不同中医调剂品的 HPLC 指数图谱比较研究[J]. *中草药*, 2010, 41(4): 573-576.
- [10] 马 瑛, 刘 芑, 柴士伟. 化癥通脉汤的 HPLC 指数图谱研究[J]. *中草药*, 2010, 41(3): 398-400.

正交设计优选竹节参总皂苷微波提取工艺的研究

欧阳丽娜^{1,2}, 李兰林^{1,3}, 吴 雪^{1,3}, 向大位^{1,3}, 孙晓博^{1,3}, 向大雄^{1,3*}

(1. 中南大学湘雅二医院 中药与天然药物研究室, 湖南 长沙 410011; 2. 岳阳市第一人民医院 药剂科, 湖南 岳阳 414000;

3. 中南大学药学院, 湖南 长沙 410013)

摘要: 目的 优选竹节参总皂苷的微波提取工艺。方法 利用紫外分光光度法测定竹节参中总皂苷, 运用正交试验设计, 以总皂苷转移率为考察指标, 筛选最佳微波提取工艺; 并将其与加热回流提取法及超声提取法进行比较。结果 微波提取竹节参总皂苷的最佳提取工艺参数为: 乙醇体积分数 80%, 微波功率 400 W, 料液比 1: 18, 提取 4 次, 每次提取 5 min。在此条件下, 竹节参总皂苷的转移率高达 97.77%。结论 微波提取工艺具有效率高、时间短、能耗低、环保等优点, 为竹节参总皂苷的工业化生产和新药开发提供了参考。

关键词: 竹节参; 总皂苷; 微波提取; 正交设计; 含量测定

中图分类号: R286.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)10-1639-04

竹节参为五加科植物竹节参 *Panax japonicus* C. A. Mey. 的干燥呈竹鞭状根茎, 广泛分布于日本及中国西南至中部地区^[1], 存在羽叶三七、狭叶竹节参及珠子参等变种^[2]。其性温、味甘、微苦, 具有

滋补强壮, 散瘀止痛, 止血祛痰等功效^[3], 兼具我国北药人参和南药三七的功用, 享有“土家族神参”的美誉。现代药理研究表明, 竹节参中研究最多、功效最显著的为皂苷类化合物, 具有抗炎、抗氧化、抗

①收稿日期: 2010-02-27

基金项目: 湖南省中医药科研计划项目(2009062)

作者简介: 欧阳丽娜(1984—), 女, 湖南岳阳人, 主要从事药物新资源与新剂型的开发。

Tel: (0731) 5292093 E-mail: ouyanglina410@126.com

* 通讯作者 向大雄 Tel: (0731) 5292093 E-mail: xiangdaxiong@163.com