

洛糖醛酸的 $pK_a = 3.5$, 甘露糖醛酸的 $pK_a = 4.0$ 。所以, 当 $pH\ 1.2$ 时壳聚糖与氢离子结合成为聚阳离子, 开始溶解, 海藻酸与钙离子交联解离和 H^+ 结合但不溶解。当 $pH\ 6.8$ 时海藻酸电离成为海藻酸根并开始溶解, 微囊解体。总之, 在 $pH\ 1.2$ 的释放介质中外层的壳聚糖质子化并溶解, 部分药物随之溶出, 但是此层中的药物的量低。在 $pH\ 6.8$ 的释放介质中, 中间层的壳聚糖不溶, 形成网状膜骨架结构, 海藻酸及其钙盐透过膜慢慢渗出溶解, 同时药物也随之渗出, 从而达到脉冲释放的效果。

当微囊在体内从胃部向小肠转移时, 随 pH 值的变化, 药物释放将呈现脉冲型释放特征, 其脉冲释药时滞为胃内的滞留时间。但由于此时滞时间太短, 壳聚糖-海藻酸钠微囊作为脉冲给药系统并不完善。由于时滞是脉冲技术的关键, 如果制剂在胃肠道不能有效地滞留, 在未发挥作用前就达到小肠远端或被排出体外, 则不能达到预期的治疗目的, 而通过向微囊中加入起泡剂, 则可以使制剂漂浮于胃液中, 延长胃排空时间。同时因为时滞时间是由微囊在胃肠道中的漂浮时间决定的, 因此可以通过改变起泡剂的用量来控制时滞时间。本研究中对该制剂进行优化设计, 通过在微囊中加入起泡剂制成胃内漂浮系统来调整释药时滞, 达到延长时滞的目的, 经优化后

的微囊的释药时滞可达到 6 h。

脉冲给药系统是基于时辰药理学的理论, 以制剂手段控制药物释放, 配合生理节律的变化, 达到最佳疗效的智能化给药系统。本实验采用芦丁作为模型药物, 制备漂浮型的脉冲给药系统, 取得了理想的效果, 对脉冲释药系统应用于中药, 实现中药制剂现代化具有一定的意义。

参考文献:

- [1] Kikuchi A, Okano T. Pulsatile drug release control using hydrogels [J]. *Adv Drug Del Rev*, 2002, 54(1): 53-77.
- [2] Charloix A, Gronfier C, Lonsdorfer-Wolf E, et al. Aldosterone release during the sleep-wake cycle in humans [J]. *Am J Physiol*, 1999, 276: E43-E49.
- [3] Xu X Q, Sun M J, Zhi F, et al. Floating matrix dosage form for phenoprolamine hydrochloride based on gas forming agent: In vitro and in vivo evaluation in healthy volunteers [J]. *Int J Pharm*, 2006, 310(1-2): 139-145.
- [4] Choi B Y, Park H J, Hwang S J, et al. Preparation of alginate beads for floating drug delivery system: effects of CO_2 gas-forming agents [J]. *Int J Pharm*, 2002, 239(1-2): 81-91.
- [5] Krogel I, Bodmeier R. Floating or pulsatile drug delivery systems based on coated effervescent cores [J]. *Int J Pharm*, 1999, 187(2): 175-184.
- [6] Murata Y, Sasaki N, Miyamoto E, et al. Use of floating alginate gel beads for stomach-specific drug delivery [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2000, 50(2): 221-226.
- [7] Gaserod O, Smidsrod O, Skjak-brak G. Microcapsules of alginate-chitosan I: A quantitative study of the interaction between alginate and chitosan [J]. *Biomaterials*, 1998, 19(20): 1815-1825.

HPLC 法测定络通胶囊中绿原酸、阿魏酸、甘草苷、甘草素、肉桂酸和哈巴俄苷

赵晓莉, 陈晓燕, 狄留庆*, 吴 皓

(南京中医药大学中医药研究院, 江苏 南京 210029)

摘要: 目的 建立 HPLC 双波长法同时测定络通胶囊中绿原酸、阿魏酸、甘草苷、甘草素、肉桂酸、哈巴俄苷 6 个成分的方法。方法 采用 YMC-C₁₈ 柱, 以乙腈-0.5% 磷酸水为流动相, 梯度洗脱, 双波长检测 ($\lambda_1 = 276\text{ nm}$, $\lambda_2 = 327\text{ nm}$), 体积流量为 1.0 mL/min, 柱温 30℃。结果 6 个成分均能达到基线分离, 各成分的平均回收率在 94.1%~98.8%。结论 本检测方法简便、准确、重现性好, 可作为络通胶囊质量控制的方法。

关键词: 络通胶囊; 绿原酸; 阿魏酸; 甘草苷; 甘草素; 肉桂酸; 哈巴俄苷; 高效液相色谱

中图分类号: R 286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2008)02-0212-04

络通胶囊是由金银花、当归、玄参、甘草等组成
的复方制剂, 具有清热养阴、活血化瘀的功效, 临床

用于血栓闭塞性脉管炎、脑血栓形成及其后遗症等
症的治疗^[1]。目前对其质量控制主要采用分别测定

收稿日期: 2007-06-30

基金项目: 国家科技部 863 计划资助项目(2003AA 2Z3247); 江苏省自然科学基金资助项目(BK2005150)

作者简介: 赵晓莉(1976—), 女, 江苏南京人, 实验师, 博士, 主要从事中药药剂学及中药制剂分析研究。

Tel: (025)86798226 E-mail: xlee_zhao@163.com

* 通讯作者 狄留庆

其中黄芪甲苷、甘草苷和甘草酸。本实验参考相关文献报道^[2,3],建立了以HPLC双波长法一次进样同时检测络通胶囊中绿原酸、阿魏酸、甘草苷、甘草素、肉桂酸、哈巴俄苷6个成分的方法,所测6个成分的色谱峰与相邻色谱峰均能得到良好的分离,因此本法可以更加全面、有效地控制本品的质量。

1 仪器与试剂

Agilent1100液相色谱仪(美国Agilent公司);BP211D型电子分析天平(德国Satorius公司);KQ-250型超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司)。

乙腈(美国Tedia公司,色谱纯);重蒸去离子水(实验室制备);乙醇(上海化学试剂有限公司,分析纯);磷酸(上海化学试剂有限公司,分析纯);甲醇(上海化学试剂有限公司,分析纯)。

金银花为忍冬科植物忍冬*Lonicera japonica* Thunb.干燥花蕾或带初开的花,当归为伞形科植物当归*Angelica sinensis* (Oliv.) Diels的干燥根,玄参为玄参科植物玄参*Scrophularia ningpoensis* Hemsl.的干燥根,甘草为豆科植物甘草*Clycyrrhiza uralensis* Fisch.干燥根及根茎。以上药材均购自江苏省药材公司,由本校中药鉴定教研室吴德康教授鉴定。

绿原酸(批号110753-200212)、阿魏酸(批号0773-9910)、甘草苷(批号111610-200604)、肉桂酸(批号0786-9801)对照品均由中国药品生物制品检定所提供,甘草素对照品(自制,质量分数为99.5%以上),哈巴俄苷对照品(Chromadex, Inc.公司,批号08056)。络通胶囊由本院自制。

2 方法与结果

2.1 色谱条件与系统实用性试验:色谱柱为YMC Pack ODS柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:A

(乙腈)-B(0.5%磷酸水溶液),梯度洗脱:0~10 min (B: 90% → 86%), 10~18 min (B: 86% → 84%), 18~30 min (B: 84%), 30~60 min (B: 84% → 70%), 60~75 min (B: 70% → 40%), 75~78 min (B: 40%), 78~82 min (B: 40% → 90%);体积流量:1.0 mL/min;双波长检测, $\lambda_1 = 276$ nm (检测甘草苷、甘草素、肉桂酸、哈巴俄苷), $\lambda_2 = 327$ nm (检测绿原酸、阿魏酸);柱温:30℃;进样量:10 μL。理论塔板数按绿原酸计算不低于4 000,按甘草苷计算不低于3 000,6个成分与相邻色谱峰的分离度均大于1.5。

2.2 供试品溶液的制备:取装量差异项下的络通胶囊内容物,混匀,研细,取0.5 g,精密称定,置50 mL具塞锥形瓶中,精密加入50%甲醇50 mL,称定质量,超声处理30 min,冷却后称定质量,用50%甲醇补足减失的质量,摇匀,0.45 μm微孔滤膜滤过,即得。

2.3 对照品溶液的制备:精密称取绿原酸、阿魏酸、甘草苷、甘草素、肉桂酸、哈巴俄苷对照品各适量,置50 mL量瓶中,加乙腈稀释至刻度,摇匀,即得含绿原酸268 μg/mL、阿魏酸171.2 μg/mL、甘草苷502 μg/mL、甘草素62.3 μg/mL、肉桂酸60.0 μg/mL、哈巴俄苷81.6 μg/mL的混合对照品溶液。

2.4 阴性供试品溶液的制备:绿原酸、阿魏酸、甘草苷、甘草素、肉桂酸、哈巴俄苷分别来源于金银花、当归、甘草、玄参4味药材,按络通胶囊的生产工艺制备缺金银花、当归、玄参、甘草的阴性制剂,并按照供试品溶液的制备方法制备各阴性供试品溶液。

2.5 方法学考察

2.5.1 空白干扰试验:取阴性供试品溶液进样10 μL,测定,得HPLC图谱,见图1、2。结果阴性制剂对所测组分无干扰。

2.5.2 线性关系考察:分别精密吸取混合对照品溶液2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 mL各置10 mL量瓶中,

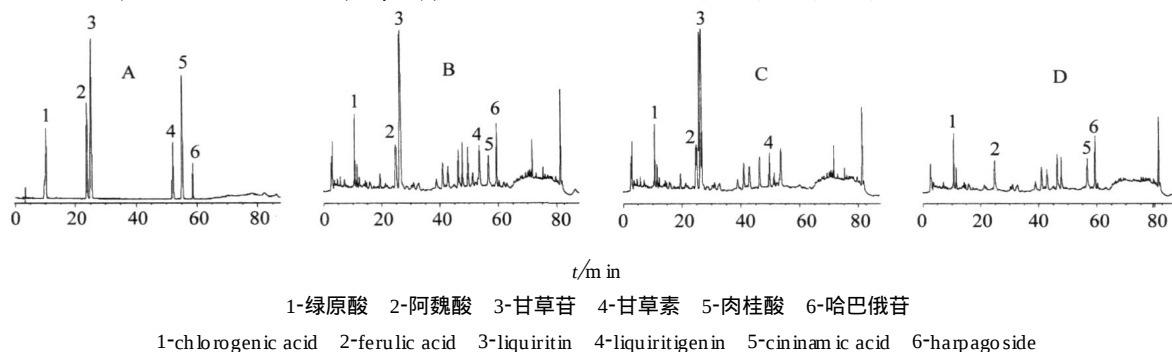


图1 混合对照品(A)、络通胶囊(B)、缺玄参的阴性制剂(C)和缺甘草的阴性制剂(D)在276 nm处HPLC色谱图
Fig.1 HPLC Chromatogram of reference substances (A), Luotong Capsula (B), negative sample without Radix Scrophulariae (C), and negative sample without Radix Glycyrrhizae (D) at 276 nm

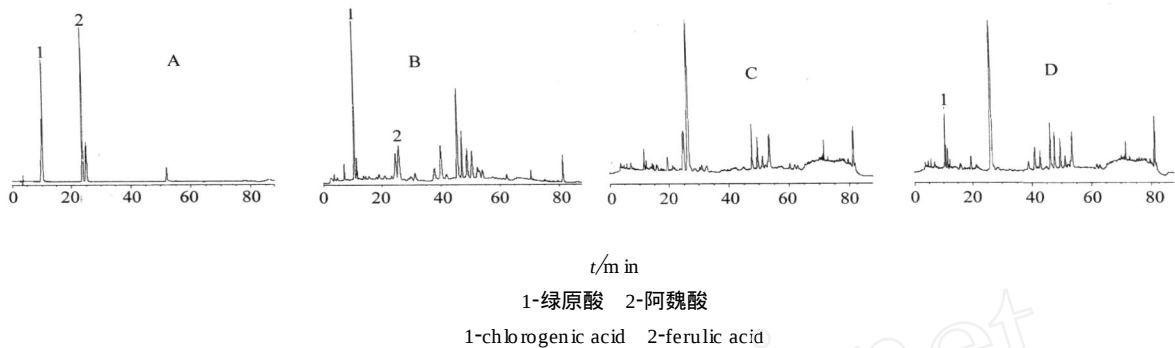


图 2 混合对照品(A)、络通胶囊(B)、缺金银花的阴性(C)和缺当归的阴性(D)在 327 nm 处 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC Chromatogram of reference substances (A), Luotong Capsula (B), negative sample lacking without *Flos Loniceræ* (C), and negative sample without *Radix Angelicae Sinensis* (D) at 327 nm

加乙腈稀释至刻度, 摇匀。各取 10 μL 进样, 测定峰面积值。以质量浓度对峰面积平均值作图, 结果经回归分析, 得 6 个成分的回归方程、相关系数及线性范围(表 1)。

表 1 各成分的回归方程和相关系数

Table 1 Regression equation and correction coefficients of components

组 分	回归方程	r	线性范围/ ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)
绿原酸	$Y = 27.734 C - 136.16$	0.999 9	53.6~268
阿魏酸	$Y = 45.324 C - 92.58$	0.999 8	34.2~171.2
甘草苷	$Y = 16.500 C - 184.39$	0.999 7	100.4~502
甘草素	$Y = 34.395 C - 1.97$	0.999 7	12.5~62.3
肉桂酸	$Y = 89.432 C - 5.39$	0.999 7	12.0~60.0
哈巴俄苷	$Y = 37.763 C - 3.46$	0.999 7	16.3~81.6

2.5.3 精密度试验: 精密吸取混合对照品溶液 6.0 mL 于 10 mL 量瓶中, 加乙腈稀释至刻度, 摇匀。取 10 μL 进样, 测定各成分的峰面积, 重复 6 次, 分别计算其 RSD, 结果绿原酸、阿魏酸、甘草苷、甘草素、肉桂酸和哈巴俄苷的 RSD 分别为 0.74%、0.91%、1.03%、1.21%、1.07%、1.41%。

2.5.4 重现性试验: 取批号为 051016 的样品 6 份, 分别制备供试品溶液, 各取 10 μL 进样, 测定峰面积, 计算各成分的质量分数和 RSD, 结果绿原酸: 12.270 mg/g 、1.67%; 阿魏酸: 2.978 mg/g 、

1.69%; 甘草苷: 27.242 mg/g 、1.18%; 甘草素: 2.394 mg/g 、0.93%; 肉桂酸: 0.745 mg/g 、1.10%; 巴俄苷: 1.853 mg/g 、1.19%。

2.5.5 稳定性试验: 取批号为 051016 的样品, 制备供试品溶液, 分别于 0、2、4、6、8、10 h 各取 10 μL 进样测定各成分的峰面积, 分别计算 RSD, 结果绿原酸 2.11%、阿魏酸 1.89%、甘草苷 1.21%、甘草素 1.28%、肉桂酸 1.54%、哈巴俄苷 1.71%, 表明供试品溶液在室温条件下 10 h 内稳定。

2.5.6 回收率试验: 取批号为 051016 的络通胶囊内容物, 混匀, 研细, 取 0.25 g, 精密称定, 置 50 mL 具塞锥形瓶中, 加入含绿原酸 1.5 mg/mL 、阿魏酸 0.4 mg/mL 、甘草苷 3.4 mg/mL 、甘草素 0.3 mg/mL 、肉桂酸 0.1 mg/mL 、哈巴俄苷 0.25 mg/mL 的混合对照品溶液 2 mL, 制备供试品溶液, 取 10 μL 进样, 测定, 计算回收率。平行 6 份。结果得到各成分的平均回收率和 RSD, 绿原酸: 94.1%、3.52%; 阿魏酸: 95.8%、2.63%; 甘草苷: 98.8%、2.04%; 甘草素: 97.3%、2.37%; 肉桂酸: 95.7%、2.88%; 哈巴俄苷: 96.6%、2.16%。

2.5.7 样品的测定: 各取 3 个批号的装量差异项下的络通胶囊内容物, 制备供试品溶液, 每批平行 3 份, 每份进样 2 次, 以回归方程计算各成分的质量分数, 结果见表 2。

表 2 络通胶囊中有效成分的测定结果 ($n=3$)

Table 2 Determination of active components in Luotong Capsula ($n=3$)

批 号	绿原酸		阿魏酸		甘草苷		甘草素		肉桂酸		哈巴俄苷	
	质量分数/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	RSD/ %	质量分数/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	RSD/ %	质量分数/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	RSD/ %	质量分数/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	RSD/ %	质量分数/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	RSD/ %	质量分数/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	RSD/ %
051006	11.334	0.90	3.168	2.51	28.301	1.77	2.649	2.34	0.820	2.12	2.137	2.15
051016	12.340	1.48	2.963	1.14	27.263	2.78	2.408	2.37	0.729	1.54	1.869	2.62
051026	11.790	1.76	2.919	2.83	27.212	2.77	2.656	2.64	0.727	0.86	2.032	0.35

3 讨论

络通胶囊是一复方中药制剂,所含成分复杂,本研究曾选用不同溶剂系统,如乙腈-水、甲醇-水、乙腈-0.1%磷酸水、乙腈-0.5%磷酸水作为流动相进行试验。首先进行的是等度洗脱,但所需检测的几个峰的分度不理想,故改用梯度洗脱。经多次试验,反复调整洗脱程序,最终以本研究中的梯度洗脱程序来分离样品,所检测的6个峰均能达到基线分离。

通过分别对本研究中的6个对照品溶液的紫外波长扫描,发现绿原酸、阿魏酸、甘草苷、甘草素、肉桂酸、哈巴俄苷的最大吸收波长分别为327、320、276、276、271、278 nm,因此本研究采用双波长检测,于276 nm波长处检测甘草苷、甘草素、肉桂酸、哈巴俄苷;于327 nm波长处检测绿原酸和阿魏酸。在此条件下,所需检测的各峰分离度及峰形均佳,灵

敏度也较高。

为了尽可能全面反映药材的化学信息,实验对供试品溶液的制备方法进行考察。选择甲醇 75% 甲醇 50% 甲醇 25% 甲醇 水进行提取,结果 50% 甲醇提取的样品信息量较多,峰面积较大;选择回流、超声提取方法进行了比较,结果超声法所得峰面积为回流法的 95% 以上,考虑到操作的方便性,确定选择超声法;选择不同超声提取次数,结果 1 次超声 30 min 即能提取完全。

参考文献:

- [1] 韩景献,韩力.通塞脉片治疗缺血性中风恢复期气虚血瘀证临床疗效观察[J].中西医结合心脑血管病杂志,2005,3(7):591-592.
- [2] 李伟东,徐斌,狄留庆,等.RP-HPLC法测定通塞脉片不同拆方浸膏中绿原酸的含量[J].南京中医药大学学报,2003,19(1):32-33.
- [3] 张莉,狄留庆,赵晓莉,等.高效液相色谱法测定通塞脉片中黄芪甲苷的含量[J].南京中医药大学学报,2003,19(2):94-95.

正交试验法研究柴胡挥发油的提取工艺

李秀琴,孙秀燕,陈晓辉,王玺,毕开顺*

(沈阳药科大学药学院,辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 优化柴胡挥发油提取工艺。方法 采用正交设计对柴胡挥发油的提取方法进行优化,以不同工艺所提挥发油的吸光度以及其中己醛、庚醛和 2,4-癸二烯醛的量为监测指标。结果 最佳工艺为用 pH 1, 0.1 g/mL NaCl 水溶液浸泡 10 h,提取时间为 6 h。结论 该方法可用于确定柴胡挥发油的提取条件。

关键词:柴胡;挥发油;己醛;庚醛;2,4-癸二烯醛;正交试验

中图分类号:R 284.2; R 286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2008)02-0215-04

柴胡具有疏肝解郁和解表里,升举阳气之功效。其主要有效成分为挥发油、皂苷以及多糖。以水蒸气蒸馏法制成挥发油注射液,临床用于感冒、流行性感及疟疾等症疗效甚好。多年来柴胡挥发油的提取工艺都是仅以其蒸馏液的紫外吸光度值为监测指标对其工艺进行优化^[1],而忽略了对其内在有效成分的监控。本课题组通过 GC-MS 法分析柴胡挥发油,发现其含有大量脂肪族的醛类物质如己醛、庚醛、辛醛、壬烯醛、2,4-癸二烯醛等。挥发油中低分子醛酮为解热的有效成分^[2],故本研究采用正交试验法,以挥发油吸光度值和己醛、庚醛、2,4-癸二烯醛的量为指标,考察了不同浸泡时间、水的 pH 值、NaCl 浓度及不同提取时间对柴胡挥发油质量的影

响,更加科学的对柴胡挥发油的提取工艺进行优化。

1 仪器与药品

岛津 GC2010 毛细管气相色谱仪,氢火焰离子化检测器(FID),岛津 UV 265FW 紫外分光光度仪;己醛、庚醛对照品(质量浓度 ≥ 99.0%)购于天津光复精细化工研究所,2,4-癸二烯醛对照品(反式,质量浓度 ≥ 99.0%)购于北京百灵威化学技术有限公司;柴胡药材由沈阳药科大学江泽荣教授进行形态学鉴定,为辽宁产北柴胡 *Bup leu rum chinense* DC.。

2 方法与结果

2.1 因素水平的确定:对浸泡时间(A)、浸泡用水的酸度(B)和 NaCl 浓度(C)、提取时间(D)4 个因素进行考察,选用 L₉(3⁴) 正交试验表进行重复试验

收稿日期:2007-05-15

作者简介:李秀琴(1979—),女,山西人,博士,主要研究方向为中药质量控制方法。

* 通讯作者 毕开顺 Tel: (024) 23843711-3380 E-mail: bikaishun@yahoo.com