

12 min 以后,分离较好。本实验采用高效液相色谱法测定血液中 MTX 浓度,色谱条件稳定,所需样本少,操作简单,所用试剂简单,较适合临床上进行 MTX 大剂量化疗时的血药浓度监测。

参考文献:

- [1] 王建军,赵晖,姚阳. 大剂量甲氨蝶呤化疗甲酰四氢叶酸解救治疗骨肉瘤[J]. 肿瘤, 2006, 26(9): 866-869.
- [2] Gilman G. The pharmacological basis of therapeutics[M]. 10 版. 金有豫,主译. 北京:人民卫生出版社, 2004: 1089-1090.
- [3] 向芳,曾东向. RP-HPLC 法测定大剂量化疗时人血浆中的甲氨蝶呤的浓度[J]. 国际医药卫生导报, 2008, 14(10): 76-79.
- [4] 高科攀,王峰,蒋新国,等. 大鼠血浆和脑脊液中甲氨蝶呤浓度的检测和应用[J]. 中国临床药理学杂志, 2005, 14(1): 23-26.
- [5] 李金恒. 临床治疗药物检测的方法和原理[M]. 北京:人民卫生出版社, 2003: 558.

[收稿日期] 2010-01-09

高效液相色谱法测定退热解毒灵颗粒中表告依春和连翘苷的含量

杨爱霞¹, 阮金兰², 王晓仙¹, 熊朝梅² (1. 武汉市第一医院, 湖北 武汉 430022; 2. 华中科技大学同济药学院, 湖北 武汉 430030)

[摘要] 目的:测定退热解毒灵颗粒中表告依春和连翘苷的含量。方法:采用 Amethyst C₁₈-P 色谱柱(Sepax Technologies, Inc), 乙腈-0.5%磷酸水溶液(29:71)为流动相,检测波长 225 nm,流速为 1.0 mL·min⁻¹,柱温为 25 °C。结果:表告依春和连翘苷分别在 0.78~50.00 mg·L⁻¹ ($r=0.9994$) 和 10.31~660.00 mg·L⁻¹ ($r=0.9989$) 范围内呈线性关系,表告依春的平均含量为 0.23 mg·g⁻¹, RSD 为 0.41%, 连翘苷的平均含量为 3.35 mg·g⁻¹, RSD 为 0.87%。结论:该法稳定、简便,可用于退热解毒灵颗粒的质量控制。

[关键词] 表告依春;连翘苷;退热解毒灵颗粒;高效液相色谱法

[中图分类号] R927.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1001-5213(2010)19-1711-02

退热解毒灵颗粒是由板蓝根、连翘、柴胡、甘草 4 味中药组成,具有抗菌、抗病毒、解热、抗炎等作用。本颗粒剂是由退热解毒灵口服液运用现代制药技术的研究思路和方法科学改进而成^[1]。本方来源于临床经验方,作为医院制剂在临床上使用,疗效确切,不良反应少。表告依春和连翘苷分别为板蓝根和连翘的主要活性成分,始载于中国药典 2010 年版一部^[2]。现使用高效液相色谱法一次性测定退热解毒灵颗粒中表告依春和连翘苷的含量,对该药的质量控制研究提供参考。

1 材料

Hitachi 高效液相色谱仪(UV detector L-2400, Pump L-2130); T2000P 色谱工作站; UV-756MC 紫外可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司);表告依春和连翘苷的对

照品均购自中国药品生物制品检定所(批号分别为 111753-200601, 110821-200603, 供含量测定用);退热解毒灵颗粒样品为武汉市中西医结合医院自制(批号 081101);甲醇、乙腈为色谱纯,磷酸为分析纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Amethyst C₁₈-P 色谱柱(Sepax Technologies, Inc);流动相:乙腈-0.5%磷酸水溶液(29:71);检测波长:225 nm;流速:1.0 mL·min⁻¹;柱温:25 °C。在上述色谱条件下,进样 20 μL,色谱图见图 1。

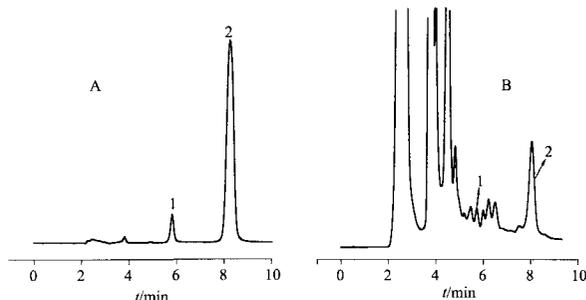


图 1 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 样品; 1-表告依春; 2-连翘苷

Fig 1 HPLC chromatogram

A. reference substance; B. sample; 1-epigoitrin; 2-phillyrin

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 用甲醇精确配制 50 mg·L⁻¹ 表告依春溶液和 660 mg·L⁻¹ 连翘苷溶液作为对照品溶液,进样前用 0.45 μm 微孔滤膜过滤。

2.2.2 供试品溶液 精密称定退热解毒灵颗粒 1.00 g,加甲醇 50 mL,超声提取 15 min,过滤并收集提取液,并转移至 50 mL 量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,取滤液作为供试品溶液。

2.3 线性关系 采用逐级稀释法,配制质量浓度分别为 50.00, 25.00, 12.50, 6.25, 1.56, 0.78 mg·L⁻¹ 的表告依春对照品溶液,以及质量浓度分别为 660.00, 330.00, 165.00, 82.50, 20.63, 10.31 mg·L⁻¹ 的连翘苷对照品溶液,以 20 μL 注入高效液相色谱仪,记录峰面积,以质量浓度对峰面积积分值进行回归处理,得标准曲线分别为,表告依春: $Y = 34583X - 3617$ ($r = 0.9994$, 线性范围 0.78~50.00 mg·L⁻¹); 连翘苷: $Y = 32599X + 253403$ ($r = 0.9989$, 线性范围 10.31~660.00 mg·L⁻¹)

2.4 精密度的试验 分别采用表告依春(1.56, 12.50, 50.00 mg·L⁻¹) 和连翘苷(20.63, 165.00, 660.00 mg·L⁻¹) 的低、中、高 3 个对照品浓度来考察仪器的日内和日间精密度的($n = 5$),记录峰面积,其 RSD 均小于 2.5%。

2.5 稳定性试验 将处理完毕的供试品溶液置于室温条件下,分别于 0, 3, 6, 9, 12 h 进样分析,表告依春峰面积的 RSD 为 1.92%, 连翘苷峰面积的 RSD 为 2.33%, 表明处理后的样品室温放置 12 h 内稳定。

2.6 重复性试验 取同一批样品(批号 10032603)的样品 5 份,按“2.2.2”项制备供试品溶液,在上述色谱条件下,每份

样品进 20 μL, 计算含量。结果 5 份样品的平均含量表告依春为 0.23 mg·g⁻¹, RSD 为 0.41%; 连翘苷为 3.35 mg·g⁻¹, RSD 为 0.87%。

2.7 加样回收率试验 取已知表告依春和连翘苷含量的样品, 加入一定量的对照品, 依“2.2.2”项方法制备溶液, 进样, 结果见表 1。

表 1 退热解毒灵颗粒中表告依春和连翘苷的加样回收率

Tab 1 Recovery of epigoitrin and phillyrin in the Tuire Jieduling granules

样品	样品量 / μg	加入量 / μg	测得量 / μg	回收率 / %	平均回收率 / %	RSD / %
表告依春	4.52	5.00	9.42	97.79	98.19	1.13
	4.52	5.00	9.45	98.45		
	4.52	5.00	9.40	97.35		
	4.52	5.00	9.52	100.00		
	4.52	5.00	9.40	97.35		
连翘苷	69.73	66.00	135.10	99.10	98.67	0.97
	69.73	66.00	134.92	98.84		
	69.73	66.00	134.15	97.73		
	69.73	66.00	135.71	99.97		
	69.73	66.00	134.15	97.73		

2.8 含量测定 分别吸取对照品溶液、供试品溶液注入 HPLC, 按上述色谱条件测定, 以外标法计算样品中表告依春和连翘苷的含量, 结果见表 2。

表 2 退热解毒灵颗粒中表告依春和连翘苷的含量测定结果 (n=3)

Tab 2 Contents of epigoitrin and phillyrin in the Tuire Jieduling granules (n=3)

批号	表告依春含量 / mg·g ⁻¹	RSD / %	连翘苷含量 / mg·L ⁻¹	RSD / %
10032601	0.26	1.92	3.49	0.88
10032602	0.30	2.67	3.68	1.10
10032603	0.23	0.41	3.35	0.87

3 讨论

3.1 检测波长的选择 在 190~850 nm 光谱扫描对照品溶液, 其最大吸收波长为 225 nm, 因此选用 225 nm 为检测波长。

3.2 流动相的选择 实验对比了甲醇-水体系, 乙腈-水体系和乙腈-0.5%磷酸水溶液体系的峰型, 发现在乙腈-0.5%磷酸水溶液(29:71)体系中, 表告依春与连翘苷的峰得到了较好的分离, 并且峰形对称较好, 这可能与所加入的磷酸能抑制分析对象电离有关。

3.3 萃取溶剂的选择 因为表告依春和连翘苷的极性均较大, 所以分别以纯净水和甲醇为萃取溶剂, 采用室温超声萃取 15 min。结果表明, 2 种萃取溶剂对表告依春和连翘苷的提取率差异无显著性, 其萃取率均在 90% 以上。实验选择甲醇做为超声萃取溶剂。

参考文献:

- [1] 杨爱霞, 张长弓, 付琴琴. 退热解毒灵颗粒剂的制备和质量控制[J]. 中国药师, 2008, 11(9): 1059-1061.
- [2] 中国药典. 一部[S]. 2010: 159, 191.

[收稿日期] 2010-05-12

均匀试验优选葶苈子的微波炮制工艺

余金喜¹, 马梅芳², 殷扬¹ (1. 枣庄矿业集团中心医院, 山东 枣庄 277011; 2. 枣庄市药品检验所, 山东 枣庄 277102)

[摘要] 目的: 优选葶苈子微波炮制的最佳工艺。方法: 以微波火力和加热时间为变量, 采用均匀试验设计, 以外观性状、水溶性浸出物、醇溶性浸出物、脂肪油和芥子碱硫酸盐含量 5 个方面为考察指标。结果: 葶苈子微波炮制的最佳工艺为微波小火力, 加热 7 min。结论: 微波法炮制葶苈子合理、稳定、可行。

[关键词] 葶苈子; 微波; 炮制; 工艺

[中图分类号] R283 [文献标识码] A [文章编号] 1001-5213 (2010)19-1712-03

葶苈子为十字花科植物独行菜 *Lepidium apetalum* Willd. (习称“北葶苈子”)或播娘蒿 *Descurainia Sophia* (L.) Webb ex Prantl. (习称“南葶苈子”)的干燥成熟种子, 具有泻肺平喘、利水消肿之功效, 为中医临床常用中药, 从汉代起就有炮制后入药的记载。本研究采用微波技术对葶苈子进行加热炮制, 采用均匀设计优选葶苈子的最佳微波炮制工艺, 并对传统炒制品与微波炮制品进行了比较。

1 材料

UV-2401PC 紫外可见分光光度计(日本岛津); SP-8810 高效液相色谱仪, Spectra 100 检测器, N2000 色谱工作站等; 葶苈子样品, 经山东中医药大学石俊英教授鉴定为十字花科植物播娘蒿 *Descurainia sophia* (L.) Webb ex Prantl. 的干燥成熟种子(南葶苈子), 产地山东威海。传统炒制品, 取洗净后的南葶苈子 100 g, 按照 2005 年版中国药典一部, 置铁锅内, 文火炒至微鼓起, 表面色泽稍加深, 有香气逸出时, 取出, 放凉。芥子碱硫酸盐对照品购自中国药品生物制品检定所; 乙腈为色谱纯, 水为纯化水, 余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

微波法炮制中药, 影响因素主要有投药量、微波的火力和时间。实际生产中, 具体品种的投药量为固定值, 只有微波火力和时间为变量, 为了尽可能多的考察工艺水平并减少试验次数, 采用均匀设计, 对葶苈子的微波炮制工艺进行优选。

2.1 微波炮制品的制备 以家用微波炉为炮制设备, 根据种子类药材的实际情况, 通过反复预试, 确定可以制备出外观性状合格的样品的火力与时间范围, 以微波火力和时间为指标, 采用均匀设计法设计葶苈子的微波炮制实验, 选用 U₆(6×3)混合水平均匀设计表^[1], 见表 1, 因素水平见表 2。称取洗净后的葶苈子 200 g, 6 份, 按均匀设计表的 6 种工艺组合, 投料, 炮制, 放凉, 备用。

2.2 葶苈子微波炮制品各工艺评价指标的测定

2.2.1 外观性状评价 根据葶苈子传统炒制品的性状描述, 以同条件下生品、微波炮制品比较后的鼓起情况、香气、易碎程度、表面色泽、内部色泽、油性大小 6 个指标进行外观性状打分评价。结果见表 3。