

关基因如 HMG-CoA 还原酶基因的表达,从而达到对细胞内胆固醇水平的有效调控。雪菊黄酮对 HMG-CoA 还原酶活性的抑制可能是通过细胞信号途径而实现的,其具体的调控途径有待于进一步深入研究。

#### [参考文献]

[1] Zhang Y, Shi SP, Zhao MB, et al. Coreosides A-D, C14-polyacetylene glycosides from the capitula of *Coreopsis tinctoria* and its anti-inflammatory activity against COX-2[J].

Fitoterapia, 2013, 87(10): 93-97.

- [2] 赵军, 孙玉华, 徐芳, 等. 昆仑雪菊黄酮类成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2013, 25(3): 50-52.
- [3] 曹燕, 庞市宾, 徐磊, 等. 金鸡菊提取物体外抗氧化活性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12): 144-147.
- [4] 邹凤平, 熊鸣, 余琼卫, 等. 高效液相色谱检测巨噬细胞内胆固醇的研究[J]. 分析科学学报, 2007, 23(6): 647-650.

(责任编辑: 骆欢欢)

## 微乳液相色谱在双黄连注射剂质量控制中的应用

成晓岚, 陶斯湄

中山大学附属第三医院药剂科, 广东 广州 510095

**[摘要]** 目的: 建立双黄连注射剂中黄芩苷的微乳液相色谱(MELC)测定方法, 并考察其影响因素。方法: 以 2.0% SDS—0.8% 正己烷—6.0% 异丙醇—93.2% 水, 磷酸调 pH 至 3.00 为流动相。采用 Hypersil BDS C<sub>18</sub> 5 μm (4.6 mm×150 mm) 色谱柱, 柱温为 25℃, 检测波长 278 nm。结果: 实验发现, 被测成分黄芩苷的线性范围和相关系数分别为 6 μg/mL~60 mg/mL,  $r=0.9997$ 。对应的平均回收率和相对标准偏差 RSD 分别为: 99.24%, 0.56% ( $n=6$ )。结论: 本法简便、快速、精确、专属性强, 可用于双黄连注射剂中的黄芩苷质量控制。

**[关键词]** 微乳液相色谱法(MELC); 双黄连注射剂; 黄芩苷

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2015) 04-0272-03

**DOI:** 10.13457/j.cnki.jncm.2015.04.129

中药制剂的质量控制常采用高效液相色谱法(HPLC), 然而, 对于复方中药制剂, HPLC 法进行有效成分含量的检测, 突显出了诸多不足。如复杂的样品预处理过程, 同一制剂需 2 种、3 种甚至更多色谱分离条件, 大大增加了日常分析工作量。复杂的样品预处理过程又容易导致分析误差, 也增加分析成本<sup>[1]</sup>。由于微乳液相色谱法(MELC)具有极强的溶解能力、高分离效率, 样品制备过程简化, 也能实现复方制剂中多组分的同时测定, 弥补了 HPLC 的不足, 有望解决中药制剂质量控制中所面临的困境。现拟采用 MELC 法测定双黄连注射液中黄芩苷成分的含量, 探讨 MELC 在中药制剂质量控制中应用的可行性和优越性, 为 MELC 广泛应用于中药制剂质量控制提供理论基础和实践经验。

#### 1 材料与仪器

Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司), 配二

极管阵列检测器及化学工作站; 十二烷基硫酸钠(SDS)为化学纯(广东省汕头市西陇化工厂); 甲醇为色谱纯, 其它试剂均为分析纯; 水为三蒸水; 对照品黄芩苷由中国药品生物制品检验所提供, 其余辅料均为药用规格; 双黄连注射液由哈尔滨珍宝制药有限公司生产提供, 批号为 120910。

#### 2 方法与结果

**2.1 溶液制备** 微乳流动相制备: 取 20 g SDS, 加入 800 mL 注射用水, 搅拌至全溶后, 再加入 60 mL 异丙醇和 8 mL 正己烷, 最后加入注射用水稀释至 1000 mL, 超声至形成澄清透明液体溶液, 即得微乳, 用磷酸调节 pH 至 3.00, 超声 15 min, 0.45 μm 滤膜过滤。对照品溶液的制备: 精密称取对照品黄芩苷 1.07 mg, 置 50 mL 容量瓶中, 加甲醇至 40 mL 溶解, 超声使全溶, 冷却至室温后加甲醇至刻度。

**2.2 色谱条件** 色谱柱为 Hypersil BDS C<sub>18</sub> 5 μm (4.6 mm ×

**[收稿日期]** 2014-11-10

**[作者简介]** 成晓岚 (1986-), 女, 中药师, 研究方向: 中药学。

150 mm)柱,流动相为微乳[2.0% (体积分数)SDS—0.8% (体积分数)正己烷—6.0% (体积分数)异丙醇—93.2% (体积分数)水,磷酸调 pH=3.00],流速 0.8 mL/min,检测波长 278 nm;柱温 25℃。在此条件下,对照品、样品和空白对照的色谱图见图 1。

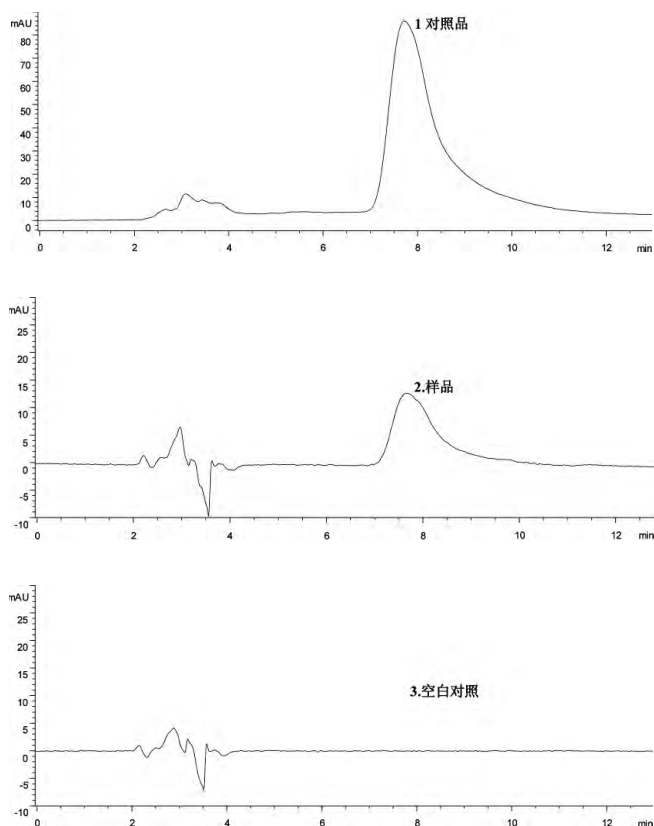


图 1 黄芩苷对照品、双黄连注射液样品及空白对照的色谱图

**2.3 线性关系考察** 精取 12.00 mg 黄芩苷对照品至 100 mL 容量瓶,配成 0.12 mg/mL 的黄芩苷母液,分别取 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 至 10 mL 容量瓶,加适量甲醇,超声至完全溶解后,再用甲醇稀释至刻度,进样 15  $\mu$ L,每份进样重复操作 3 次,以质量浓度  $C$  ( $\mu$ g/mL)为横坐标,峰面积的平均值为纵坐标进行线性回归,得回归方程如下: $y=10.488x-23.314$ , $r=0.9997$ 。实验结果表明:黄芩苷(6 mg/mL ~ 60 mg/mL)在各自的质量浓度范围内与峰面积的线性关系均较好。

**2.4 精密度** 取线性关系下质量浓度为 6  $\mu$ g/mL 和 36  $\mu$ g/mL 的两对照品溶液,进样 15  $\mu$ L,每个重复进样 6 次,得黄芩苷峰面积的 RSD ( $n=6$ )为 0.49% 和 0.79%,实验结果表明,此试验方法具有良好的精密度。

**2.5 稳定性** 取浓度为 24  $\mu$ g/mL 的对照品溶液,8 h 内每隔 1 h 进样一次,每次进样 15  $\mu$ L 得黄芩苷峰面积的 RSD ( $n=7$ )为 0.67%,实验结果表明,被测溶液常温下放置 8 h 内性质稳定。

**2.6 重复性** 精密称取同一批号 6 份样品,加甲醇溶解后进

样 15  $\mu$ L,每份进样两次得其峰面积的 RSD 为 1.55%,实验结果表明,此试验方法具有良好的重复性。

**2.7 加样回收率** 见表 1。分别称取 6 份样品(每份 0.20 mg)于 10 mL 容量瓶内,加适量甲醇后,加入线性关系考察项下各浓度对照品溶液各 2 mL,超声使全溶,放至室温后加甲醇稀释至刻度,摇匀,进样 15  $\mu$ L,每个样品进样 3 次,按回归方程求得黄芩苷的回收率。

表 1 加样回收率

实测值(mg)	样品含量(mg)	对照品加入量(mg)	回收率	平均值	RSD
0.492	0.253	0.24	99.58%	99.24%	0.56%
0.477	0.241	0.24	98.33%		
0.481	0.241	0.24	100.00%		
0.479	0.241	0.24	99.17%		
0.480	0.241	0.24	99.58%		
0.490	0.253	0.24	98.75%		

**2.8 样品测定** 取生产批号为 120910、120911 和 120912 的样品进行测定,3 批样品中黄芩苷含量分别为 1.201 mg/mg, 1.176 mg/mg, 1.223 mg/mg。

### 3 讨论

**3.1 供试品溶液制备方法的选择** 2010 版《中华人民共和国药典(2010 年版)》<sup>[2]</sup>HPLC 测定黄芩苷的含量时采用 50% 甲醇超声处理 20 min,文献报道也采用上述方法。实验中观察到,50% 甲醇超声处理 20 min 与用 100% 甲醇溶解超声所得色谱峰峰面积的结果无明显区别,而溶解操作更为简便易行,所以选择甲醇溶解对照品。

**3.2 检测波长的选择** 本实验对黄芩苷对照品进行了 200 ~ 500 nm 紫外光谱扫描,结果表明,黄芩苷在 278 nm 处有较强吸收,315 nm 处有次强吸收,为了保证实验检测灵敏度,于是选择 278 nm 作为检测波长。

**3.3 流动相的选择与影响** 表面活性剂的选择:本实验做的是 O/W 型微乳为流动相。O/W 型微乳最常用的表面活性剂是 SDS,也可以用十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)<sup>[3]</sup>。SDS 在微乳中的含量一般在 1.75% ~ 5.00% 之间,虽然 SDS 含量在 0.5% 以上即可形成胶束,但低于 1.75%,系统不能使油溶解,无法形成微乳。增加表面活性剂的含量能使溶质分散在大表面积的微乳液滴中并一起流向检测器,降低了溶质在固定相上的保留<sup>[4]</sup>。助表面活性剂的选择:助表面活性剂一般为短链醇,实验表明,增加助表面活性剂的浓度,增大了流动相中有机溶剂的比例,降低了溶质的保留时间。油相的选择:油相一般为短链的烷烃,常用的有庚烷、辛烷、己烷等。增加油的含量,流动相中的有机相的比例增加,溶质的保留时间降低。改变油相可改变疏水性物质的保留时间及其分离选择性,实验过程中分别考察了正辛烷、正庚烷、正己烷和环己烷为油相时,对分离结果的影响。结果表明,随着油相含量的增大,

黄芩苷保留时间延长,除了正己烷外其他油相的组合的峰形效果都不佳。通过考察正己烷含量 0.4% ~ 1.4% (体积分数)对分离结果的影响发现,随着含量的增大,黄芩苷保留时间延长,然而由于过高含量也使得峰形不理想,当为 0.8% (体积分数)时分离效果最为理想。

与常规 HPLC 相比,MELC 法不是简单的流动相的改变,具有其独特的分离机制和分析优势:常规的分离的原理是基于溶质在流动相和固定相之间的分配比例不同而得到分离。而 MELC 中还存在第二种分离机制,即溶质在固定相、微乳连续相和微乳液滴之间的分配,这种独特的分离机制使得 MELC 能够实现脂溶性、水溶性、中性、阴离子、阳离子等化合物的同时分离;微乳独特的两相组成:水溶性成份可溶于水相,脂溶性成份可溶于油性液滴;使得微乳具有极强的溶解能力,可以溶解蛋白,由于表面活性剂与固定相的作用,蛋白也不会沉积在固定相表面,在进行血药浓度检测时血清样品可直接进样分析;由于微乳的极强溶解能力,在进行制剂分析时(如片剂、缓释制剂、膜剂等),可以直接溶解样品进行分析,无需预处理;另外,对于在常规流动相中无法溶解的组分,可以

采用 MELC 实现其分离测定;梯度洗脱时微乳洗脱液的梯度可达 100%,微乳和色谱柱固定相之间的相互作用特点,使微乳梯度洗脱时可避免两次进样间色谱柱的重新平衡;微乳等度洗脱和梯度洗脱方式都可以在紫外末端吸收波长(190 nm)检测,从而可以提高弱生色基团化合物的检测灵敏度。

#### [参考文献]

- [1] 黄蓓蓓,贺帅.微乳液相色谱法同时测定注射用双黄连冻干粉中三组分的含量[J].医药导报,2013(1):92-95.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(2010年版)[M].北京:中国医药科技出版社,2010.
- [3] 张守尧,姚育法.微乳液相色谱法及其研究进展[J].中国药师,2009,12(7):884-886.
- [4] 贺帅,张忠义,张守尧.鼻可灵喷雾剂中地塞米松磷酸钠、氧氟沙星及盐酸麻黄碱含量的微乳液相色谱法测定[J].分析测试学报,2008,27(6):654-656.

(责任编辑:骆欢欢)

## ◆文献研究论著◆

# 消化系统疾病敷脐疗法应用研究进展

林美珍

广东省中医院,广东 广州 510120

[关键词] 消化系统疾病;敷脐疗法;综述

[中图分类号] R256.3 [文献标志码] A [文章编号] 0256-7415 (2015) 04-0274-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2015.04.130

敷脐疗法,是把药物制成适当的剂型,如药粉或药膏,敷于肚脐,外用纱布、胶布固定以治疗疾病的一种方法,简称“脐疗”。此法属于中医外治法中敷贴法范畴,其特点是操作简便,疗效确切,无明显毒副作用而具独特优势。笔者对近 5 年来脐疗在消化系统疾病中的应用进行综述并分析。

## 1 临床研究

### 1.1 单纯中药敷脐 霍中芬<sup>[1]</sup>选择血液透析中心进行维持性血

液透析的 60 例便秘患者,随机分为实验组和对照组各 30 例。实验组采用薄荷油敷脐,对照组口服麻仁丸。结果实验组总有效率为 93.33%,对照组总有效率 80.00%,2 组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。丁怀莹等<sup>[2]</sup>观察中药脐疗法治疗 2 型糖尿病便秘的疗效。将 74 例 2 型糖尿病便秘患者随机分成治疗组和对照组,分别运用中药脐疗和麻仁软胶囊治疗。结果治疗组治疗总有效率为 97.37%,对照组为 86.11%,2 组比较,

[收稿日期] 2014-11-30

[基金项目] 广东省中医院中医药科学技术研究专项 (YK2013B2N06)

[作者简介] 林美珍 (1972-),女,主任护师,主要从事护理管理及中医临床护理工作。