

表 1 不同制剂各肠段的表观吸收速率常数及有效渗透系数($n=5$)

Tab. 1 The apparent absorption rate constant and effective permeation coefficient of intestinal segments for different preparations($n=5$)

参数	肠段	NOB	NOB 脂质体	NSAP
$K_a \times 10^{-2} / \text{min}^{-1}$	十二指肠	4.11±0.40	6.84±0.72 ¹⁾	8.71±0.81 ¹⁾²⁾
	空场	3.87±0.37	6.41±0.53 ¹⁾	7.54±0.54 ¹⁾²⁾
	回肠	3.99±0.22	6.42±0.49 ¹⁾	7.72±0.42 ¹⁾²⁾
$P_{\text{eff}} \times 10^{-3} / \text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$	十二指肠	5.00±0.22	5.64±0.23 ¹⁾	8.61±0.58 ¹⁾²⁾
	空场	4.08±0.61	5.26±0.26 ¹⁾	7.39±0.42 ¹⁾²⁾
	回肠	3.82±0.33	5.36±0.34 ¹⁾	7.60±0.50 ¹⁾²⁾
	结肠	4.51±0.53	5.69±0.77 ¹⁾	7.43±0.80 ¹⁾²⁾

注: 与 NOB 组比较, ¹⁾ $P < 0.05$; 与 NOB 脂质体组比较, ²⁾ $P < 0.05$ 。
Note: compared with NOB group, compared with NOB liposome group, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.05$.

实验表明普通脂质体对 NOB 的吸收有明显促进, NSAP 则较普通脂质体更明显促进药物在肠道的吸收。根据以上结果, 对 NSAP 促进药物吸收的机制如下推测: 磷脂分子形成的普通脂质体有促进 NOB 肠道吸收的能力, 这与磷脂可以促进黄酮类药物的肠道吸收的文献^[9]报道相符, 可能是脂质体改善了药物的两亲性。NSAP 的促吸收作用较普通脂质体更高, 可能是由于 NSAP 中修饰剂的加入一方面使脂质体的可变形性增加, 药物更易穿过细胞屏障^[10], 另一方面也使脂质体的粒径减小、粘附性增加^[11], 从而增加了药物与肠壁的接触面积和接触时间。但是自组装前体脂质体的促吸收机制还有待于进一步证实。

大鼠在体肠吸收实验和大鼠体内药动学研究^[7]均表明本实验制备的川陈皮素自组装前体脂质体

可以显著促进药物的口服吸收。

REFERENCES

- [1] TANG M, OGAWA K, ASAMOTO M, et al. Protective effects of citrus nobiletin and auraptene in transgenic rats developing adenocarcinoma of the prostate (TRAP) and human prostate carcinoma cells [J]. *Cancer Sci*, 2007, 98(4): 471-477.
- [2] GREEN C O, ASEMOTA H N. Compositions and methods for treating hypercholesterolemia using ortanique peel extract: US, 20100015255 [P]. 2010-01-21.
- [3] SEKI T, KAMIYA T, FURUKAWA K, et al. Nobiletin-rich Citrus reticulata peels, a kampo medicine for Alzheimer's disease: a case series [J]. *Geriatr Gerontol Int*, 2013, 13(1): 236-238.
- [4] WEI Z, YANG L, LI M, et al. Optimization of extraction technology of hesperidin and nobiletin from citrus reticulata by Box-Behnken Design-Response Surface Methodology [J]. *Chin J Exper Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志)*, 2013, 19(10): 17-20.
- [5] YAO J, LU Y, ZHOU J P, et al. Preparation of nobiletin-loaded self-microemulsifying system and its absorption kinetics in rat intestines [J]. *J China Pharm Univ (中国药科大学学报)*, 2007, 38(1): 35-38.
- [6] ZHANG X F, XING C F, GUO Q T. Preparation of nobiletin solid lipid nanoparticles [J]. *Chin Tradit Pat Med (中成药)*, 2014, 36(9): 1857-1862.
- [7] LIN W, YAO J, ZHOU J P. Preparation of self-assemble nobiletin proliposomes and its pharmacokinetics in rats [J]. *Acta Pharm Sin (药学学报)*, 2009, 44(2): 192-196.
- [8] FAGERHOLM U, JOHANSSON M, LENNEMAS H. Comparison between permeability coefficients in rat and human jejunum [J]. *Pharm Res*, 1996, 13(9): 1336-1342.
- [9] DING J S, ZHANG J S. Absorption of breviscapine in small intestine of rat [J]. *J China Pharm Univ (中国药科大学学报)*, 2003, 34(1): 65-69.
- [10] DESHMUKH D D, RAVIS W R, BETAGERI G V, et al. Improved delivery of cromolyn from oral proliposomal beads [J]. *Int J Pharm*, 2008, 358(1/2): 128-136.
- [11] WANG G, CHANG M Q, YANG G Y, et al. Oral absorption of long circulating nano-liposomes of quercetin in mice [J]. *Her Med (医药导报)*, 2011, 30(10): 1266-1269.

收稿日期: 2014-12-18

心可舒片的质量控制

赵振霞, 王敏, 刘永利, 冯丽* (河北省药品检验研究院, 石家庄 050011)

摘要: 目的 建立心可舒片的质量控制方法。方法 采用高效液相色谱法对山楂中黄酮类成分进行定性鉴别, 对木香中主要成分木香烯内酯与去氢木香内酯进行定量测定。结果 鉴别方法分离度良好; 木香烯内酯和去氢木香内酯与相邻峰完全分离; 线性关系良好, 平均加样回收率($n=9$)分别为 99.99%(RSD=1.3%)和 99.68%(RSD=1.1%)。结论 该方法专属性

基金项目: “重大新药创制” 国家科技重大专项(2012ZX09304005-005); 河北省科技计划项目(13272513)

作者简介: 赵振霞, 女, 硕士, 主管药师 Tel: (0311)85212008-8042 E-mail: 200611163@163.com *通信作者: 冯丽, 女, 主任药师 Tel: (0311)85210960 E-mail: jianyan882@163.com

强、准确度高、重复性好,可用于心可舒片的质量控制。

关键词: 心可舒片; 山楂; 木香; 木香炔内酯; 去氢木香内酯; 高效液相色谱法

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2015)07-0820-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.07.011

Study on Quality Control of Xinkeshu Tablet

ZHAO Zhenxia, WANG Min, LIU Yongli, FENG Li* (Hebei Institute for Drug Control, Shijiazhuang 050011, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the method for quality control of Xinkeshu tablet. **METHODS** Compositions of flavonoids in *Crataegi Fructus* was identified by HPLC. Costunolide and dehydrocostus lactone in *Aucklandiae Radix* were determined by HPLC. **RESULTS** The resolution of identification method was favorable. Costunolide and dehydrocostus lactone were separated literally. The linear relationships of calibration curves were favorable. The average spotting recoveries($n=9$) of costunolide and dehydrocostus lactone were 99.99%(RSD=1.3%) and 99.68%(RSD=1.1%). **CONCLUSION** The established methods have favorable specificity, accuracy and repeatability, and can be applied for quality control of Xinkeshu tablet.

KEY WORDS: Xinkeshu tablet; *Crataegi Fructus*; *Aucklandiae Radix*; costunolide; dehydrocostus lactone; HPLC

心可舒片收载于中国药典 2010 年版一部, 由丹参、葛根、三七、木香、山楂等 5 味药组成, 是治疗由冠心病引起的胸闷、心绞痛、高血压等疾病的国家基本药物^[1-2]。目前文献对心可舒片的研究多针对丹参、葛根 2 味药进行^[3-6], 少有对木香、山楂的研究报道。本实验建立了木香中主要成分木香炔内酯与去氢木香内酯的含量测定方法^[7-10], 制定了山楂中黄酮类成分的高效液相色谱鉴别方法^[11], 提高了方法的专属性, 为全面控制心可舒片的质量提供了依据。

1 仪器与试剂

Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国四元泵, DAD 检测器, 美国 Agilent 公司); AE240 电子分析天平(瑞士 METTLER TOLEDO); KQ-500DE 超声波处理器(昆山市超声仪器有限公司); 超纯水仪(美国 Millipore 公司)。

对照品: 金丝桃苷(批号: 111521-201004, 含量以 93.9%计)、木香炔内酯(批号: 111524-201208, 含量以 99.5%计)、去氢木香内酯(批号: 111525-201008, 含量以 100%计)均购自中国食品药品检定研究院; 心可舒片(山东沃华医药科技股份有限公司, 批号、规格见表 2); 乙腈(色谱纯, 德国 Merck); 三氟乙酸[色谱纯, 阿法埃沙(天津)化学有限公司]; 水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 山楂的鉴别

2.1.1 色谱条件 色谱柱: Thermo C₁₈(4.6 mm ×

250 mm, 5 μm), 流动相: 以乙腈为流动相 A, 0.1% 三氟乙酸为流动相 B, 梯度洗脱: 0~10 min, A 保持 17%; 10~20 min, A 17%→19%; 流速: 1.0 mL·min⁻¹, 柱温: 30 °C, 检测波长: 355 nm。

2.1.2 溶液的制备

2.1.2.1 对照品溶液 精密称取适量的金丝桃苷对照品, 加 70%甲醇溶液制成每 1 mL 含金丝桃苷 30 μg 的溶液, 作为对照品溶液。

2.1.2.2 供试品溶液 取本品 5 片, 研细, 加 20%乙醇 50 mL, 超声处理 30 min, 4 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清液加在已处理好的聚酰胺柱(100~200 目, 内径为 1.5 cm, 柱长 5 cm, 湿法装柱)上, 用 20%乙醇 150 mL 洗脱, 弃去洗脱液, 继用 30%的乙醇 200 mL 洗脱, 收集洗脱液, 蒸干, 残渣加 70%甲醇溶液 2 mL 使溶解, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.1.2.3 对照药材溶液 取山楂对照药材 2 g, 按“2.1.2.2”项下方法制成对照药材溶液。

2.1.2.4 阴性样品溶液 按心可舒片处方比例称取其他 4 味药材, 按制备工艺制备阴性样品(缺山楂), 按“2.1.2.2”项下方法制备阴性样品溶液。

2.1.3 专属性试验 精密吸取上述溶液, 按“2.1.1”项下色谱条件测定, 结果见图 1。在供试品色谱图中, 显示与山楂对照药材相对应的 2 个色谱峰, 并有金丝桃苷相对于的色谱峰出现, 阴性样品色谱中没有与山楂对照药材相应的色谱峰, 表明方法专属性好。

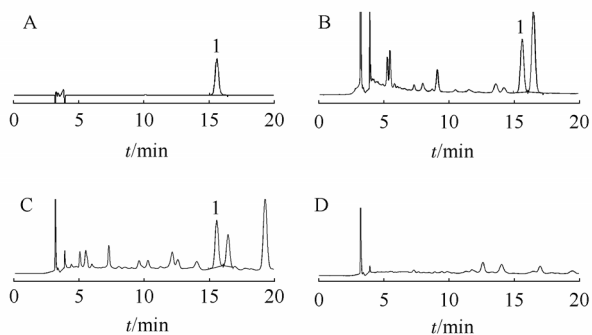


图1 高效液相色谱图

A-金丝桃苷对照品; B-山楂对照药材; C-心可舒片; D-阴性样品;
1-金丝桃苷。

Fig. 1 HPLC chromatograms

A-gyperoside; B-Crataegi Fructus; C-sample; D-negative samples;
1-hyperoside.

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱: Inertsil ODS-SP(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈-水(45:55), 流速: 1.0 mL·min⁻¹, 柱温: 30℃, 检测波长: 225 nm。

2.2.2 溶液制备

2.2.2.1 混合对照品溶液 精密称取木香烃内酯、去氢木香内酯对照品适量, 加甲醇制成每 1 mL 含木香烃内酯 20 μg、去氢木香内酯 30 μg 的混合溶液, 作为混合对照品溶液。

2.2.2.2 供试品溶液 取本品 20 片, 研细, 精密称取 0.6 g, 置具塞锥形瓶中, 精密加甲醇 25 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理 30 min, 取出, 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 即得。

2.2.2.3 阴性样品溶液 按心可舒片处方比例称取其他 4 味药材, 按制备工艺制备阴性样品(缺木香), 按“2.2.2.2”项下方法制备成阴性样品溶液。

2.2.3 专属性试验 精密吸取上述溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件测定, 结果见图 2。供试品色谱图中, 显示与木香烃内酯对照品与去氢木香内酯对照品相对应的色谱峰, 阴性样品色谱中没有相应的色谱峰, 表明方法专属性良好。

2.2.4 线性关系考察 取木香烃内酯、去氢木香内酯对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成浓度为 0.148 1, 0.140 0 mg·mL⁻¹ 的标准贮备液, 分别精密吸取上述标准贮备液一定量, 置 100 mL 的量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 得系列浓度的对照品溶液, 进样测定, 记录峰面积, 以对照品进样浓度(μg·mL⁻¹)为横坐标, 峰面积积分为纵坐标, 进

行线性回归。结果木香烃内酯线性方程为 $y=18.57x+0.325(r=0.9999)$, 线性范围为 1.481~148.1 μg·mL⁻¹; 去氢木香内酯线性方程为 $y=11.73x+2.807(r=0.9999)$, 线性范围为 4.200~140.0 μg·mL⁻¹。

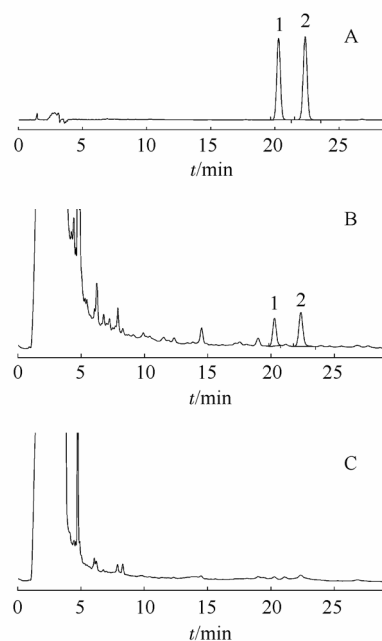


图2 高效液相色谱图

A-混合对照品; B-心可舒片; C-阴性样品; 1-木香烃内酯; 2-去氢木香内酯。

Fig. 2 HPLC chromatograms

A-mixed reference substances; B-sample; C-negative sample;
1-costunolide; 2-dehydrocostus lactone.

2.2.5 重复性试验 取同一批样品(批号: 110566), 研细, 精密称取 0.48, 0.6, 0.72 g 各 3 份, 按“2.2.2.2”项下方法分别制备供试品溶液, 进样测定, 结果木香烃内酯与去氢木香内酯的平均含量分别为 0.26 mg·g⁻¹(RSD=0.7%)和 0.57 mg·g⁻¹(RSD=0.8%), 表明重复性好。

2.2.6 稳定性试验 取同一批号供试品溶液(批号: 110566), 分别在制备后 0, 2, 4, 8, 14, 24 h 进样测定, 结果木香烃内酯与去氢木香内酯色谱峰面积的 RSD 分别为 0.9%和 0.7%, 表明供试品溶液在 24 h 内基本稳定。

2.2.7 回收率试验 取已知含量的样品(批号: 110566)粉末 9 份, 每份约 0.3 g, 精密称定, 每 3 份为一组, 分别加入用甲醇溶液配制的低, 中, 高 3 个浓度的混合对照品溶液 25 mL, 分别按“2.2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 进样测定, 计算平均回收率及 RSD 值, 结果见表 1, 表明方法回收率好。

表 1 回收率试验结果

Tab. 1 The results of recovery tests

成分	已有量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
木 香 烯 内 酯	0.078 0	0.037 0	0.114 5	98.54	99.99	1.3
	0.078 1	0.037 0	0.115 9	102.24		
	0.078 6	0.037 0	0.115 1	98.70		
	0.077 6	0.092 5	0.171 4	101.37		
	0.078 2	0.092 5	0.171 3	100.56		
	0.078 4	0.092 5	0.169 8	98.75		
	0.078 7	0.185 1	0.263 4	99.79		
	0.078 3	0.185 1	0.263 9	100.28		
去 氢 木 香 内 酯	0.078 1	0.185 1	0.262 6	99.70	99.68	1.1
	0.1735	0.087 5	0.259 8	98.63		
	0.173 6	0.087 5	0.259 4	98.06		
	0.174 7	0.087 5	0.262 1	99.89		
	0.172 5	0.175 0	0.346 7	99.54		
	0.174 0	0.175 0	0.348 2	99.54		
	0.174 4	0.175 0	0.349 5	100.06		
	0.174 9	0.262 5	0.439 9	100.95		
0.174 1	0.262 5	0.440 1	101.33			
0.173 6	0.262 5	0.433 9	99.16			

2.2.8 样品测定 取样品,按“2.2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件测定,计算 2 种成分含量,结果见表 2。

表 2 木香烯内酯与去氢木香内酯的含量测定结果

规格	批号	木香烯内酯/g	去氢木香内酯/g
每片 0.31 g	110566	0.08	0.18
	110915	0.08	0.19
	111142	0.07	0.15
每片 0.62 g	022071	0.18	0.41
	111212	0.16	0.33

3 讨论

山楂中主要成分为黄酮类成分和有机酸类成分,目前对山楂的鉴别多以后者为主,如熊果酸^[12]等,但其专属性较差,因此本实验对山楂中黄酮类成分进行了研究。由于其含量较低,本实验采用 HPLC,以金丝桃苷与山楂对照药材为参照,对其中主要成分进行鉴别,提高了方法专属性。供试品溶液制备采用聚酰胺柱进行纯化,对洗脱液的浓度、用量,聚酰胺的粒度、用量以及环境温

度等进行了考察,还对不同型号色谱柱进行了耐用性试验,结果方法重复性、耐用性良好。

木香含量测定方法耐用性考察主要包括不同型号色谱柱、不同品牌仪器以及柱温、流速、流动相比、检测波长等色谱条件的微小变化,结果色谱峰均分离较好,测定结果基本一致,表明本方法耐用性较好。

本实验建立了心可舒片中山楂所含黄酮类成分的鉴别方法,并对木香中木香烯内酯与去氢木香内酯的含量进行了测定,为心可舒片的质量控制提供了技术支持。

REFERENCES

- [1] 中国药典.一部[S].2010:604.
- [2] 国家药典委员会.中国药典临床用药须知:中药卷[M].北京:化学工业出版社,2005:323.
- [3] 魏惠珍,黄周华,崔金国,等. HPLC 法测定心可舒胶囊和心可舒片中丹酚酸 B [J]. 中草药,2007,38(8):1196-1197.
- [4] RAO Y, WEI H Z, CUI J G, et al. HPLC simultaneous determination of puerarin and lithospermic B in Xinkeshu preparations [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2007, 27(9):1431-1433.
- [5] LIAO Z G, ZHAO G W, LIANG X L, et al. The simultaneous determination of three major bioactive components in Xinkeshu tablets by HPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2008, 25(6):536-539.
- [6] LIU B, XU Y B, WANG R H. Simultaneous determination of puerarin and tanshinone II A in Xinkeshu Capsule by HPLC [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2006, 28(5):669-671.
- [7] YANG X, LIU X Q, ZHANG X, et al. Quality evaluation of *Aucklandia lappa* and 3 TCM compound preparations containing *A. lappa* by HPLC multi-components quantitation by one marker [J]. China Pharm(中国药房), 2014, 25(11):1030-1034.
- [8] TAN S J, QIU D, LIU G, et al. HPLC determination of costunolide and dehydrocostus lactone in Qiwei Guangzao pills [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2011, 31(1):145-147.
- [9] ZHANG X, JIANG Y J Z, JIA T Z. Determination the contents of costunolide and dehydrocostuslactone in Radix Aucklandiae from different origin [J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med(辽宁中医药大学学报), 2011, 13(2):27-29.
- [10] 唐英玲. 高效液相色谱梯度洗脱法同时测定沉香理气丸中 4 种内酯含量[J]. 医药导报, 2014, 33(11):1517-1519.
- [11] PAN Y N, HU J L, XIE Y Y, et al. Systematical quality evaluation of Fructus Crataegi and its processed drugs planted in China [J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志), 2010, 45(7):492-495.
- [12] YANG Q, CAO J, TAO J. Study on TLC for Jiangzhining tablets [J]. Chin J Mod Drug Appl(中国现代药物应用), 2011, 5(18):1-2.

收稿日期:2014-12-29