

文章编号 1006-8147(2014)05-0411-04

论 著

天然湿痒霜中甘草次酸含量和有关物质的测定

张 瑾^{1,3}, 陈 虹², 高 颖², 秦园园³

(1.天津医科大学研究生院, 天津 300070; 2.武警后勤学院生药学和药剂学教研室, 天津 300309; 3. 武警后勤学院附属医院药材科, 天津 300162)

摘要 目的:建立天然湿痒霜中甘草次酸的含量和有关物质测定的 HPLC 分析方法。方法:色谱柱:Agela-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:0.1%的磷酸:乙腈(40:60, v/v);流速:1.0 mL·min⁻¹;检测波长:254 nm;柱温:35 ℃。结果:甘草次酸在 5.062 5~405 μg·mL⁻¹($r=0.999\ 9$)浓度范围内与峰面积呈良好的线性关系,平均回收率 100.13%($RSD=0.41\%$, $n=9$)。检测限 1.62 ng,甘草次酸主峰与其有关物质及其分解产物均能达到有效的分离。结论:该方法灵敏、准确、简便、专属性强,可作为该制剂质量控制的有效手段。

关键词 天然湿痒霜;甘草次酸;HPLC;含量测定

中图分类号 R927.2

文献标志码 A

甘草,豆科多年生草本植物,又名“甜草”^[1]始载于《神农本草经》,称“此草最为众药之王,经方少有不用品者”。骆和生分析了《方剂学》所载正方,全书载正方 236 首,含甘草者 45.8%,占首位,由此可见甘草的应用之广。甘草的药理研究主要集中在甘草酸(glycyrrhizic acid)、甘草次酸(glycyrrhetic acid)、总黄酮、单种黄酮及多糖等化合物^[2]。其中甘草酸是甘草中含量最高的苷类化合物,也是甘草的主要甜味成分。其可水解为苷元—甘草次酸,从而产生广泛的药理作用^[3]。甘草次酸具有抗炎、抗溃疡、抗过敏、抗氧化、免疫调节、抗病毒、抗癌、保肝和稳定细胞膜等作用^[4-5]。其中甘草及其有效成分的抗炎和免疫调节作用、皮质激素样作用、抗菌、抗病毒、抗肿瘤作用常被皮肤科采用^[6]。大量临床研究证实,甘草及其有效成分与其他药物联用可有效治疗神经性皮炎、慢性湿疹、慢性荨麻疹、斑秃等皮肤疾病,且无严重的不良反应^[7-11]。天然湿痒霜就是以这些药理作用为基础研制的一种含有甘草次酸的乳膏制剂,其作用温和、不刺激,能迅速缓解由蚊虫叮咬、湿疹等引起的皮肤瘙痒及不适感,祛痒、祛痒作用明显。本文运用高效液相色谱法对天然湿痒霜的主要成分甘草次酸进行含量和相关物质的测定。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

1.1.1 仪器 SHIMADZU-M20A 型高效液相色谱仪(日本岛津),SPD-M20A 二极管阵列检测器(日

本岛津),LC-solution 岛津工作站(日本岛津),KQ-500E 型超声清洗仪(昆山市仪器厂),半微量型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司)。

1.1.2 试剂 天然湿痒霜(实验室自制),甘草次酸对照品(中国药品生物制品鉴定所,批号 110723-200612),乙腈(天津市康科德科技有限公司,色谱纯),无水甲醇(利安隆博华(天津)医药化学有限公司,分析纯),磷酸(天津市风船化学试剂科技有限公司,分析纯)。

1.2 方法

1.2.1 溶液的制备

1.2.1.1 供试品溶液:精密称取本品 1 g(每克本品约含有甘草次酸 5 mg),精密加入 25 mL 甲醇超声溶解,取上清液,滤过,取续滤液作为供试品溶液 I。

1.2.1.2 自身对照溶液:精密量取供试品溶液 I 1 mL,置 100 mL 量瓶中,用 75%甲醇定容,摇匀,滤过,续滤液作为自身对照溶液。

1.2.2 色谱条件与系统适用性 色谱柱:Agela-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:0.1%的磷酸:乙腈(40:60, v/v);流速:1.0 mL·min⁻¹;检测波长:254 nm;柱温:35 ℃;进样量:20 μL。以空白辅料溶液、对照品溶液和供试品溶液分别进样测定,记录色谱图。

1.2.3 专属性考察

1.2.3.1 空白辅料干扰试验:称取天然湿痒霜全部辅料适量,照 1.2.1.1 项下方法配制,在上述色谱条件下进行测定,记录色谱图。

1.2.3.2 天然湿痒霜的破坏试验:分别取供试品溶

作者简介 张瑾(1980-),女,硕士在读,研究方向:药物化学;通信作者:陈虹, E-mail: chen hongtian06@163.com。

液 1.0 mL 置于 10 mL 容量瓶,然后分别加入 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 溶液, $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 溶液和 6% H_2O_2 溶液各 1.0 mL, 80 °C 水浴加热 30 min, 冷却至室温, 调 pH 至中性, 75% 甲醇稀释至刻度, 即制得天然湿痒霜的酸、碱、氧化破坏样品; 取天然湿痒霜适量, 置 130 °C 烘箱 90 min 后, 用 75% 甲醇溶解定容成相同浓度, 制得天然湿痒霜的高温破坏样品。分别取各破坏样品进行测定, 记录色谱图。

1.2.4 线性关系和范围 精密称取甘草次酸对照品适量(本试验为 20.25 mg)置 50 mL 容量瓶中, 加 75% 甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为储备液。取对照品溶液制成浓度为 5.062 5、50.62 5、101.25、253.125、405 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的甘草次酸对照品系列溶液, 分别取 20 μL , 注入液相色谱仪, 记录色谱图。

1.2.5 精密度 取 101.25 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的甘草次酸对照品溶液分别于 1 日内和连续 5 日内连续进样 5 次, 测定精密度。

1.2.6 回收率 取同一批号已知含量的样品, 按 1.2.1.1 项下方法进行, 精密量取 1 mL, 分别加入相应对照品, 加入量约为样品含量 80%、100% 和 120%。每一浓度进样测定 3 次, 记录峰面积, 并计算回收率。

1.2.7 稳定性考察 取 101.25 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的甘草次酸对照品溶液分别于 0、2、4、8、12 h 测定, 记录色谱图。

1.2.8 灵敏度 取自身对照溶液作为储备液, 逐步稀释, 在 1.2.2 色谱条件下进样, 测定检测限与定量限。

1.2.9 含量测定 取样品 3 批, 照 1.2.1.1 项下方法制备, 并取对照品溶液, 在上述色谱条件下分别进行测定。用外标法计算含量。本品含甘草次酸应为标示量的 90%~110%。

1.2.10 有关物质测定 取样品 3 批, 照 1.2.1.1 和 1.2.1.2 项下方法制备供试品溶液和自身对照溶液, 分别进行测定, 以外标峰面积不加校正因子主成分自身对照法^[12]计算有关物质相对含量。

2 结果

2.1 色谱条件与系统适用性 系统适用性试验结果表明, 在 1.2.2 项色谱条件下, 甘草次酸的保留时间为 24.5 min, 理论塔板数以甘草次酸计均大于 2 000, 主成分与杂质峰分离度均大于 1.5。见图 1。

2.2 专属性考察

2.2.1 空白辅料干扰试验 结果表明, 空白辅料不干扰甘草次酸的测定。见图 1。

2.2.2 破坏性试验 样品溶液的酸、碱、氧化、高温

破坏色谱图与未破坏图比较, 结果显示, 各条件下的降解产物和本品主峰均能达到完全分离。见图 2。

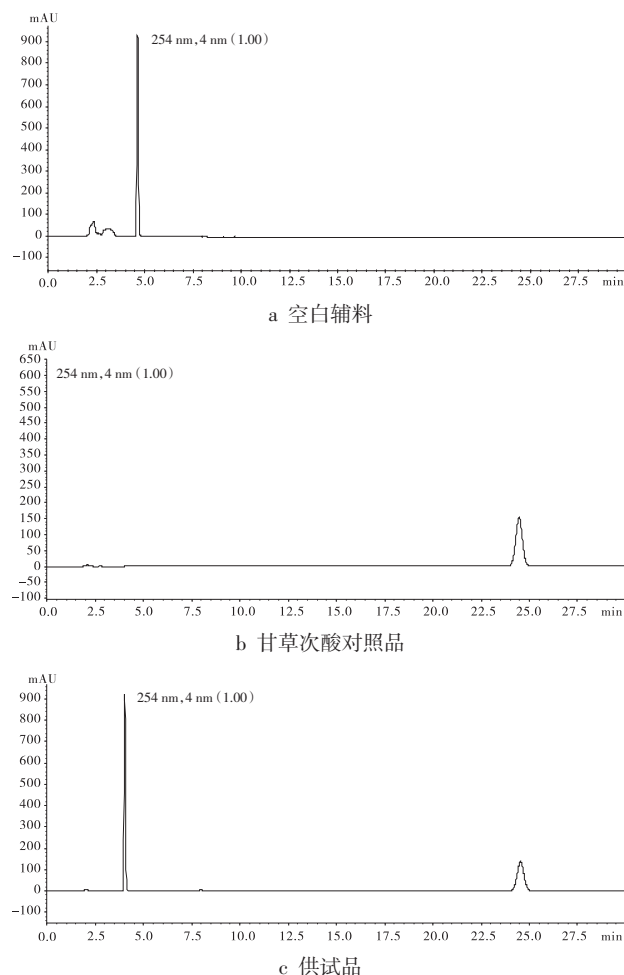


图1 甘草次酸色谱图

2.3 线性关系和范围 以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程为 $A=20\ 991C+53\ 524$, $r=0.999\ 9$ 。结果表明甘草次酸在 5.062 5~405 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度范围内, 线性关系良好。

2.4 精密度 精密度的考察结果为, 日内精密度 RSD 为 1.55% ($n=5$); 日间精密度 RSD 为 1.50% ($n=5$), 表明精密度良好。

2.5 回收率 甘草次酸的回收率分别为 100.23%, 100.72%, 99.45%; RSD 分别为 0.62%, 0.37%, 0.26%。符合方法学要求。

2.6 稳定性 甘草次酸峰面积 RSD 为 1.7%, 结果表明溶液在 12 h 内测定结果稳定。

2.7 灵敏度 信噪比 $S/N=3$ 时, 甘草次酸的检测限为 1.62 ng; 而信噪比 $S/N=10$ 时, 甘草次酸的定量限为 4.05 ng。

2.8 样品含量测定和有关物质测定 样品含量和有关物质测定结果见表 1、2 及图 3。

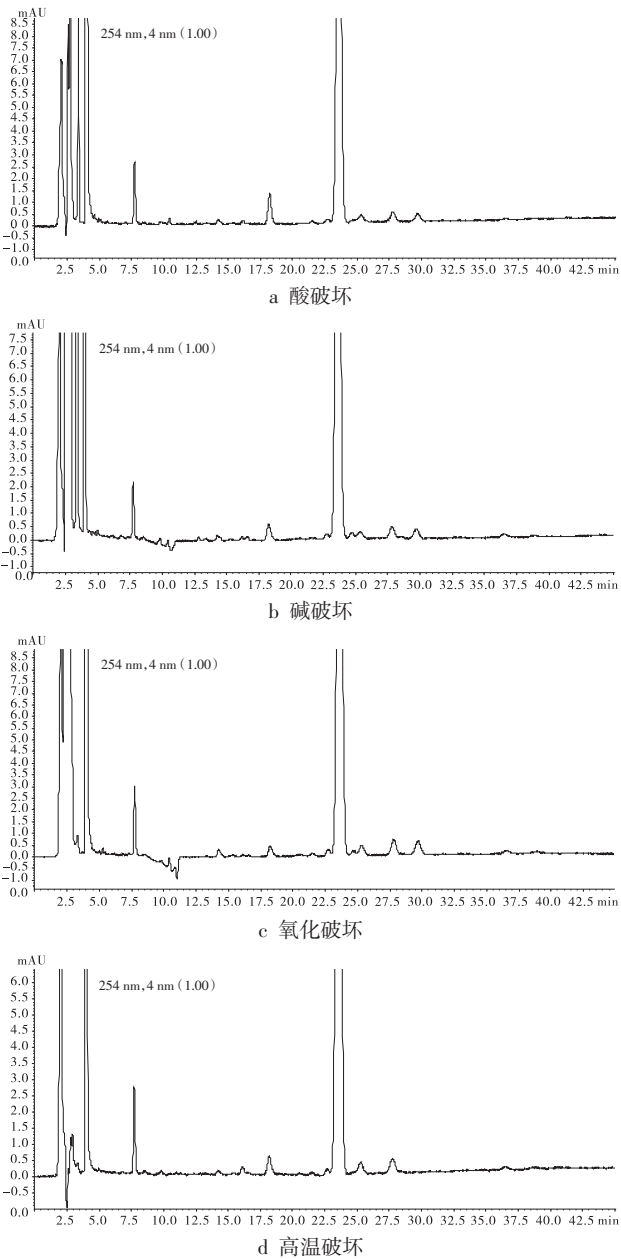


图 2 天然湿痒霜破坏试验

表 1 含量测定结果

批号	百分含量/%	$\bar{x}\pm s$	RSD/%
20130511	95.2	93.73±1.40	1.50
	93.6		
	92.4		
20130515	94.0	95.67±1.47	1.54
	96.8		
	96.2		
20130519	92.6	93.33±0.95	1.01
	94.4		
	93.0		

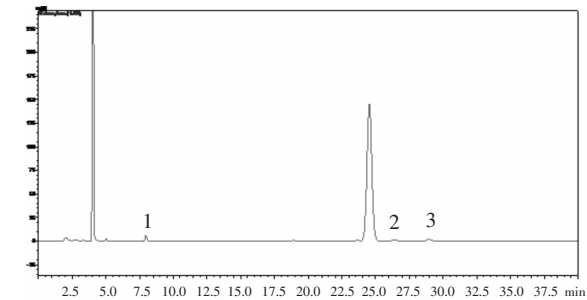


图 3 样品有关物质测定 HPLC 图谱

表 2 样品中甘草次酸有关物质测定结果

批号	有关物质/%			
	杂质 1	杂质 2	杂质 3	总杂质
20130511	1.42	0.86	1.41	3.69
20130515	1.51	0.90	1.49	3.90
20130519	1.47	0.89	1.48	3.84

3 讨论

3.1 流动相的选择 根据文献，分别选择 0.025 mol·L⁻¹ 醋酸钠溶液(pH3.5)-乙腈(59:41)和乙腈-0.1%磷酸(40:60)为流动相,结果发现出峰时间在 40 min 左右,出峰时间过长,故调整流动相比比例,最终选择乙腈-0.1%磷酸(60:40)为流动相,出峰时间适宜,杂质分离度良好。

3.2 破乳方法的选择 在乳膏制剂的含量测定的方法学研究中,由于乳化剂的存在,会使含量测定的结果偏低,所以选择适当的破乳方法是含量测定的关键。在本方法中,使用 75%甲醇为溶剂溶解乳膏,而甲醇是常用的破乳剂之一,但在本试验中,甲醇的破乳效果较差,含量测定的结果偏低。而后,采用超声法进行破乳处理,含量测定的结果较为理想。

3.3 氧化剂浓度的选择 在酸、碱、氧化、高温破坏实验过程中发现，根据文献选用 30% H₂O₂ 对甘草次酸进行破坏试验,甘草次酸经过 30%H₂O₂ 溶液氧化后,主峰甚至消失,失去破坏性试验意义,提示本品易氧化^[13]。在本试验中,调整 H₂O₂ 溶液的浓度至 6%时,使其适度降解,达到破坏试验的目的。

3.4 检测波长的选择 以甲醇为溶剂,在 200~400 nm 波长范围内进行扫描,最大吸收波长分别为 254 nm,故选用检测波长为 254 nm。

本试验建立了高效液相色谱法测定天然湿痒霜中主药甘草次酸的含量及有关物质,测定结果证明本方法专属性强、分离效果好,方法线性、稳定性、回收率试验均达较好的技术要求,可对天然湿

痒霜的质量进行有效控制。

参考文献:

- [1] 张英杰,苑述刚,马少丹,等.甘草的中药学及临床文献研究概述[J].中医临床研究,2011,3(11):104
- [2] 惠寿年,董阿玲.国内对甘草化学成分的研究进展[J].中草药,1990,30(4):313
- [3] 张明发,沈雅琴.甘草酸及其苷元甘草次酸的盐皮质激素样作用研究进展[J].现代药物与临床,2011,26(6):448
- [4] 韩瑶琳,王彬.甘草酸药理作用的研究进展[J].中国新药杂志,2012,21(21):2499
- [5] 王兵,王亚新.甘草的主要成分及其药理作用的研究进展[J].吉林医药学院学报,2013,34(3):215
- [6] 张明发,沈雅琴,张艳霞.甘草及其有效成分的皮肤药理和临床应用[J].药物评价研究,2013,36(2):146
- [7] 王嵩.复方甘草酸苷联合除湿止痒软膏治疗神经性皮炎的研究[J].当代医学,2013,19(3):145
- [8] 刘艳,杨蓉娅.复方甘草酸苷治疗湿疹50例近期疗效观察[J].中国皮肤性病学杂志,2005,19(10):640
- [9] 张东红,温武坚.复方甘草酸苷联合盐酸非索非那定治疗慢性荨麻疹疗效观察[J].皮肤病与性病,2010,32(2):27
- [10] 赵华,王喜钟,林碧雯,等.复方甘草酸苷治疗急性荨麻疹的疗效观察[J].中国药房,2005,16(11):846
- [11] 李洁华,王晓霞,刘道凡,等.复方甘草酸苷片联合外用5%米诺地尔溶液治疗斑秃48例[J].中国新药杂志,2009,18(23):2236
- [12] 国家药典委员会.中国药典[M].北京:化学工业出版社,2010:附录31
- [13] 田莉,高晓黎,田春海,等.复方甘草酸苷中有关物质的测定[J].时珍国医国药,2009,20(4):925

(2014-03-26 收稿)

经验交流

文章编号 1006-8147(2014)05-0414-02

冠心病合并糖尿病患者药物涂层支架术后观察

谭艳萍¹,吴校伟²,刘寅²,高明东²

(1.天津医科大学研究生院,天津 300070;2.天津胸科医院心内科,天津 300222)

关键词 冠心病;糖尿病,2型;药物支架

中图分类号 R541.4

文献标志码 B

目前,糖尿病呈逐年上升的趋势,无论是1型糖尿病还是2型糖尿病,均会导致微血管病变和大血管病变,从而显著增加心血管疾病风险。近些年来,随着介入诊疗技术的不断进步及其广泛应用,在临床工作中经皮冠脉介入(PCI)治疗成为治疗冠心病的一个重要手段。目前关于冠心病合并糖尿病(DM)患者药物涂层支架(DES)植入术后远期预后的疗效报道尚少。本研究旨在回顾性分析冠心病合并DM患者DES植入术后1年的安全性及有效性。

1 对象和方法

1.1 研究对象 选择2010年1月-2012年1月在本院经冠脉造影(CAG)确诊为冠心病并成功行DES植入(至少有1处)治疗并且病历及随访资料完整的患者500例。纳入标准:(1)患者意识清楚,可由本人提供病史并且病史可靠;(2)经CAG检查至少有1处血管狭窄 $\geq 75\%$ 并且成功行DES植入治疗;(3)患者住院期间无主要临床并发症,如死

亡、急性心肌梗死(AMI)、心源性休克等。排除病例:(1)合并有恶性肿瘤及肝、肾功能不全;(2)有服用抗凝(肝素)、抗血小板(阿司匹林、氯吡格雷)药物禁忌证的;(3)患者依从性不佳,估计预期寿命 < 1 年者;(4)近3个月内有中枢神经器质性病变者;(5)既往行瓣膜置换术、修补术或心脏移植手术者。

1.2 方法 根据是否合并有2型糖尿病分为DM组和NDM组。比较两组患者的一般情况及冠脉造影情况,累及左前降支、回旋支、中间支和右冠状动脉及主要分支血管中的1支为单支病变,2支者为双支病变,3支或3支以上或左主干者为多支病变。于术后通过电话、门诊复查或住院方式对患者进行随访观察并记录心绞痛复发及主要不良心脑血管事件(MACCE)。研究终点主要为MACCE,包括:死亡、MI、靶病变血运重建(TLR)、卒中。两组病例术前6h均服用抗血小板药物阿司匹林300mg、氯吡格雷300mg(术前2h则为600mg)。术中肝素化,术中成功植入至少1枚DES。术后坚持服用阿司匹林(术后1个月剂量由300mg减为100mg)及氯吡格

作者简介 谭艳萍(1990-),女,硕士在读,研究方向:内科学,心血管病;通信作者:刘寅,E-mail:liuyin2088@163.com