

图 3 羟基积雪草苷在 SD 大鼠体内的血药浓度 - 时间曲线

3 讨 论

3.1 本实验选择了在结构上与羟基积雪草苷同属三萜类化合物的葫芦素 B 为内标物,在优化的色谱条件下,内标物能与羟基积雪草苷以及杂质均实现较好的分离[8]。

3.2 羟基积雪草苷是三萜类化合物,其结构中没有较强的发色基团,通过 HPLC-UV 的方法测定其生物样品存在一定的难度,对该药的紫外扫描可知羟基积雪草苷在 205 nm 处有最大吸收,在 220 nm 波长左右时也有较强吸收,为避免末端吸收的干扰,故选择 225 nm 为测定波长。但在该波长情况下 HPLC 检测时,干扰物较多,所以目前常用 LC-MS[9],柱转换液相色谱法[10]和蒸发光散射检测法[11]来测定羟基积雪草苷的含量。但上述方法的成本较高,操作复杂,不便于普遍应用。为了解决 HPLC 测定中干扰物较多的问题,在样品前处理中我们采用了固相萃取法对样品进行纯化,使干扰物质减少,羟基积雪草苷及内标物与杂质峰均实现了较好的分离,基线平稳,能够满足生物样品的测定要求。

3.3 固相萃取柱的洗脱液的确定,是以尽可能多地保留目标物质并最大化地除去杂质为目的。通过考察不同配比的乙腈与水的混合溶液,进行了洗脱液的选择试验。结果表明,乙腈 - 水 = 10:90 的混合溶液作为洗脱杂质的溶液,在除去较多杂质的同时可以将更多的将羟基积雪草苷保留在固相萃取柱上,并且使血浆样品中的杂质干扰最小。乙腈 - 水 =95:5 的混合溶液 1 ml 可以达到最佳洗脱目标物质的效果。

3.4 在该色谱条件下,对羟基积雪草苷各种浓度含量测定的回收率均在 80.65%以上,RSD 均在 3.24%以下,测定所需时间短,方法灵敏可靠,具有很好的准确度和可操作性。本文所建立的方法能够满足羟基积雪草苷在大鼠体内药代动力学研究的需要。

参 考 文 献

[1] 肖 隽,车镇涛,毕开顺.柱前衍生化 HPLC 法测定积雪草及三金片中积雪草苷的含量 [J].药学学报,2000,35(8):605-608.

[2] 汪洪武,刘艳清.HPLC 测定复方金银花颗粒中绿原酸与黄芩苷含量[J].中国药学杂志,2009,44(9):706-708.

[3] 王国兰,王丽荣,王俊秋,等.梯度洗脱反相高效液相色谱法测定头孢尼西钠有关物质[J].药物分析杂志,2007,27(3):409-411.

[4] 周彦彬,李 芳,丁劲松.HPLC 梯度洗脱法同时测定人血浆中对乙酰氨基酚和维生素 C 浓度[J].中国药学杂志,2009,44(4):314-317.

[5] 闫克里,朱秀卿,赵 丽,等.固相萃取 - 反相高效液相色谱法测定人血浆长春瑞滨的浓度[J].药物分析杂志,2009,29(3):399-402.

[6] 王洪允,江 骥,胡 蓓,等.固相萃取技术进展及在生物药物分析中的应用[J].药物分析杂志,2003,23(3):236-241.

[7] 刘颖菊,尚京川,高丽佳,等.八宝素在 Beagle 犬体内药代动力学[J].药学学报,2006,41(7):680-683.

[8] 王 宁,邓意辉,王绍宁,等.高效液相色谱法测定葫芦素 B 人血清白蛋白纳米粒中药物含量[J].中国新药杂志,2007,16(23):1968-1970.

[9] 张蕾磊,王海生,姚庆强,等.积雪草化学成分研究[J].中草药,2005,36(12):1761-1763.

[10] Minsun Baek, Young-Soo Rho, Dong-Hyun Kim. Column-switching high-performance liquid chromatographic assay for determination of asiaticoside in rat plasma and bile with ultraviolet absorbance detection[J]. Journal of Chromatography B, 1999, 7(32):357-363.

[11] 高永艳,黎永洁.反相高效液相蒸发光散射检测法测定三金软胶囊中羟基积雪草苷含量[J].药物研究,2008,5(29):26-27.

(责任编辑:关蕴良)

读者·编者·作者

关于论文写作中的作者致谢

我国著作权法公布以来,已得到社会各界的广泛重视,作为医学科技期刊必须不折不扣的执行著作版权法。为此将本刊对作者致谢的有关要求重申如下。在文后致谢是表示感谢并记录在案的意思。对给予实质性帮助而又不能列为作者的单位或个人应在文后给予致谢,但必须征得被致谢人的书面同意。致谢应避免以下倾向:(1)对确实给予了帮助的单位和个人,甚至用了他人的方法、思路、资料,为了抢先发表,而不公开致谢和说明。(2)出于某种考虑,将应被致谢人放在作者的位置上,混淆了作者和被致谢者的权利和义务。(3)以知名人士、知名专家包装自己的论文,抬高论文的身份,将未曾参与工作的,也未阅读过该论文的知名专家写在被致谢者中。被致谢者包括:(1)对研究提供资助的单位和个人、合作单位。(2)协助完成研究工作和提供便利条件的组织和个人。(3)协助诊断和提出重要建议的人。(4)给予转载和引用权的资料、图片、文献、研究思想和设想的所有者。(5)作出贡献又不能成为作者的人,如提供技术帮助和给予财力、物力支持的人,在致谢中应阐明其支援的性质。(6)其他需致谢者。

本刊编辑部

2010 年 6 月