

表 3 样品检查结果

样品批号	试验方法及结果						
	鲎试验					兔法检查热原	
	1 管	2 管	PPC	PC	NC	最高升温(℃)	体温升高总数(℃)
0105171	-	-	+	+	-	0.2	0.5
0106051	-	-	+	+	-	0.5	1.1
0107131	-	-	+	+	-	0.6 *	2.9 *
0110172	-	-	+	+	-	0.3	0.6
0110311	-	-	+	+	-	0.3	0.3

注: * 为初复试 8 只家兔测试结果

4. 样品临床应用评价 经细菌内毒素检查符合规定的上述 5 个批次的甘露醇注射液,按常规应用于我院临床各科后,均未见有热原反应发生。

5. 讨论 干扰试验预试验的目的在于初步判断该样品对检查是否存在干扰及干扰的性质。从表 3 可知,样品细菌内毒素检查与兔法热原检查结果一致,临床应用也未见热原反应发生。故认为甘露醇注射液经 4 倍稀释,以灵敏度为 0.125Eu/ml 鲎试剂,用细菌内毒素检查法可代替热原检查法。

薄层色谱法在中药指纹图谱研究中的应用

山东中医药大学中药学院 高鹏 代龙

中药指纹图谱是指某种中药材或中成药经处理后,采用一定的分析手段,得到的能够标示中药材或中成药特性的色谱或光谱的图谱。现代分析技术如色谱、光谱、波谱、质谱等的发展为实现指纹图谱对中药内含物质群的总体控制提供了现代科技基础。近年来,中药指纹图谱研究取得了长足的发展,如采用 LC/MS 法对三七注射液、采用 HPLC 法对西青果与诃子、采用 GC 法对高良姜及其近缘植物挥发油进行了指纹图谱研究。传统的薄层色谱法由于精密度和重现性均较差,不适于指纹图谱分析,特别是随着现代科学技术与分析手段的发展,色谱技术与现代分析仪器相结合,产生了高效液相色谱、气相色谱、高效毛细管电泳及其各种色谱仪器与质谱、红外、核磁等技术的联用技术。薄层色谱法曾一度被认为可能被更先进的分析方法所取代,然而,20 世纪 80 年代以来,薄层色谱法得到了很大发展,高效薄层板、飞点薄层扫描仪、自动点样以及自动展开装置相继推出,使薄

层色谱的规范化及仪器化程度大为提高,加之直观、经济、简便的特点,薄层色谱法已成为目前药物分析中应用十分广泛的色谱方法。下面对薄层色谱法在中药指纹图谱研究中的应用作一简介。

1. 中药指纹图谱研究的意义 中药材在生长过程中由于受到地理条件、栽培或养殖技术条件等因素的影响,相同种类的生物体,其代谢产物往往有一定的区别,甚至有明显的差异,且大部分中药材需要经过炮制、加工后入药,不同的加工、炮制方法对中药材的成分也有显著的影响,由此造成中药材质量的不稳定。对中药材的有效成分研究,虽然已经进行了半个多世纪,但大部分中药的有效成分尚未被阐明或仅是部分被阐明,因此,对中药材或中成药的某个成分或指标性成分进行定性、定量分析,仍不能有效的控制中药材或中成药的质量。中药指纹图谱是现行中药鉴别方法的发展和提高,其鉴别功能具有更加丰富的内涵,且被赋予了量化的概念和参数,用以评估中药的真伪和稳定性具有重要的应用价值。

通过指纹图谱的特征性,既能有效的鉴别样品的真伪或产地,又可通过考察指纹图谱主要特征峰的面积或比例参数,有效控制产品的质量,确保产品质量稳定、可控。因此,在有效成分不完全明确的前提下,制定中药材或中成药的指纹图谱,对于有效的控制中药材或中成药的质量,具有重要的意义。

2. 中药指纹图谱研究的原则与方法 指纹图谱试验方法和条件须根据指纹图谱的特点进行试验条件的优选,不宜简单套用含量测定的试验条件。其常用的色谱技术有薄层色谱、液相色谱、气相色谱及其他色谱技术。薄层色谱具有分析速度快、经济可靠、操作简单、适用范围广等优点,使国内外学者很快接受并广泛应用;高效液相色谱法分离效能高、分析速度快,近期已广为普及;气相色谱法以气体为流动相,具有高效、高选择性、高灵敏度、分析速度快等优点,适于一些具有挥发性成分药材的鉴别。构建指纹图谱的方法很多,在实际应用时,可根据需要,选用一种或几种方法。建立指纹图谱的原则是必须具有良好的专属性、重现性和可行性,能够表达该品种的“唯一”特点,使同一品种、同一样品指纹图谱中构成指纹的各特征峰(斑点)作为整体(峰位、峰数、峰的高度、各峰的大致比例)在不同实验室和不同操作者之间得到的色谱整体特征应有较高的相似度,以表明方法的可行性,此外,还要使色谱方法和实验条件易于推广

和便于执行。

下面对指纹图谱建立的方法作一简单的介绍:

2.1 供试品收集:这是进行指纹图谱研究的第一步,也是至关重要的一步。一般要求收集不少于 10 批的供试样品,以保证样品具有足够的代表性。

2.2 供试品溶液的制备:取样要有代表性,若为药材的地上部分,应分别称量茎、花、叶、果的大致比例并作记录,生产中除去种子的,样品也应去掉,并作记录。一般称取供试品与选取样品的比例为 1:10。制备过程中,要选用适宜的溶剂和提取方法,使药材中的成份尽可能多地在色谱图上反映出来,也可采用萃取法制备样品。

2.3 参照物的选择:参照物一般选药物的主要活性成份或指标成分,用于考察指纹图谱稳定性和重现性,不等同于含量测定的对照品,应慎重选用,并说明其名称、来源和纯度,无参照物时也可选图谱中适当的色谱峰作参照峰,说明其色谱行为和有关数据。

2.4 实验方法和条件:通过选取简单、科学、可行的方法和条件,获取足以代表品种特征的指纹图谱,以满足指纹图谱的专属性、重现性和普遍适用性的要求。

2.5 指纹图谱的建立和辨认:应将所有样品的指纹图谱逐一研究比较,先找出药材色谱具有指纹意义的各个峰,编号,并比较药材、半成品和制剂的图谱,考察其相互之间的相关性。指纹图谱的辨认应注意指纹特征的整体性。比较时,应从指纹峰的位置、大小、各峰间的相对比例等方面综合考察。

指纹图谱的相似性是指指纹峰的数目、峰位和峰的顺序、各峰间的大致比例以及薄层板上显示的斑点的颜色等相似,其相似性可用相似度来表示,一般相似度计算结果在 0.9~1.0 之间作为符合要求。

3. 薄层色谱法在中药质量控制应用中的发展
在中药的定性鉴别研究中,从单纯的以化学对照品为对照,发展到以化学对照品和对照药材共同作为参照物,再到目前的指纹图谱质控技术,薄层色谱法在中药质量控制上的应用经历了一个循序渐进、不断完善和发展的过程。早在 20 世纪 70 年代,我国和日本的部分学者就开始采用薄层色谱法对复方中药进行指纹图谱研究,限于当时的主客观条件,未得以广泛应用。目前,在色谱技术与现代仪器分析不断发展、国内外学者已对指纹图谱质控技术达成共识的条件下,薄层色谱法在中药指纹图谱研究中有了更加广泛的

应用空间。

3.1 薄层色谱法在中药指纹图谱研究中的要求:
薄层色谱法一般采用常规硅胶预制板或高效预制板,必要时也可选用聚酰胺薄膜板或纤维素薄层板等。展开剂的选择至少须做三种不同展开剂的比较,斑点的检测也可采用可见光、紫外光或荧光猝灭法,以获得更多的信息。斑点扫描可应用多波长扫描,再进行比较、分析。另外,需注意观察温度或相对湿度对色谱行为的影响。研究过程中,应尽量把主要活性成分显示出来,这在中药质量控制中更具意义。薄层色谱指纹图谱宜在同板将“标准提取物”与供试品平行比较,即每一薄层板必须有“随行对照用提取物”或相应的参照物。显色剂分通用显色剂和专属显色剂,结合使用可在一个色谱条件下得到的指纹图谱获取成分类别的信息,如生物碱、黄酮类、甾体类、香豆素类等,专用的显色剂可以直观的显示各自的特征。

薄层板为一次性器材,不同厂家的商品预制薄层板质量不可能一致,手工自制的薄层板只能供筛选试验条件使用,用确定的条件制作指纹图谱(图象)时必须用有质量保证的商品预制板(如 Silicagel60, Merk 等)。图谱摄像时如用数码相机,解像度应在 20,00,000 象素以上,荧光色谱须在薄层色谱专用的紫外光灯箱下加滤光片拍摄。如有相应的积分软件,可立即生成轮廓扫描图。薄层扫描仪的机械部分、电子部分及光源须定期校检。

3.2 薄层色谱法在中药指纹图谱研究中的优势:
薄层色谱法应用于中药指纹图谱研究,方法简便,设备易得,非常适合我国的国情。由于其具有直观、显著等优点,因此在中药指纹图谱研究中,薄层色谱法也占有重要的一席之地。在应用薄层色谱进行指纹图谱研究时,可以从两个方面来对中药进行控制。一方面,采用薄层图谱,经过优选适宜的条件,使中药中的成分在薄层板上得到直观的体现,此法操作简便,所得薄层色谱图色彩鲜艳,便于鉴别;另一方面,采用薄层扫描法,将各成分斑点转换成不同的色谱峰,在薄层扫描图上显示出来,通过评价不同样品中各色谱峰的相对比值、峰高、峰面积及峰面积之间的相对比值等的相对稳定来达到指纹图谱对中药质量的总体控制。

4. 结语 在中药指纹图谱研究中,薄层色谱是可以提供大量信息量的方法之一,但对其色谱的质量应进行精心的研究,薄层色谱绝大多数为正相色谱,

操作简单,快速,可同时比较、鉴别多种样品,独具特色。经数据处理,可得出各样品积分值,适合原料药材的图谱分析,如人参、西洋参、三七同属 *Panax* 属,同含人参皂苷类成分,在优化的规范操作条件下得到薄层色谱荧光彩色图象可以在同板上形象的比较各样品的异同。但由于受到薄层板的质量和开放式层析系统或需显色的斑点其显色剂用量、加热条件等外界因素的影响,实验结果易产生一定的误差。因此薄层色谱法在中药指纹图谱研究中应用还须进一步加强研究。

参考文献(略)

药物控制释放体系的应用进展

鲁南制药股份有限公司

孙勇 叶蕾* 张理星 张健翔

药物制剂的有效性、安全性、合理性和精密性等,决定了用药的效果。20 世纪 90 年代以来,药物新剂型与新技术已进入了一个新的阶段。可以认为,这一阶段的特点是理论发展和工艺研究已趋于成熟,药物新型给经药系统(drug delivery system, DDS)在临床较广泛的应用即将或已经开始。它主要包括:缓释控释剂型,即不需要频繁给药、能在较长时间内维持体内药物有效浓度;靶向给药系统,即使药物浓集于靶器官、靶组织、靶细胞,提高疗效并降低全身毒副作用,以及反应时辰生物学技术与生理节律同步的脉冲式给药,根据所接受的反馈信息自动调节释放药量的自调式给药,即在发病高峰时期在体内自动释药的给药系统。

由于疾病的复杂性以及药物的多样性,适合于某种疾病和某种药物的给药系统不一定适合于另一种疾病和药物,因此必须发展多种多样的给药系统以适应不同的需要。其中控释制剂的研究是当前药剂学研究的热点之一,其目的在于寻求提供血药浓度的途径,提高药物的安全性和有效性。本文主要就控制释放给药系统(Controlled Drug Release System)的应用作一综述。

1. 抗肿瘤药物 通过研制新药和研究新剂型、改变给药方式,发展高效低毒抗肿瘤药是目前抗肿瘤药趋势。国内外学者认为恶性肿瘤化疗最关键的途径之一是使肿瘤细胞在充分时间内接触到一定浓度

的对之敏感的药物。利用生物医学工程学的方法,以生物医学材料作为载体将经典的抗肿瘤药物制成定向可控制释放的药物体系已成为当今基础医学与临床医学结合研究的前沿和热点课题之一。这种药物体系的应用可大大缩短新药开发研究的周期,降低成本,减少用药量。该方法可通过改变给药途径(如经 Ommaya 束穿刺注射、局部埋植、局部定期注射等)来实现肿瘤细胞与药物接触,提高肿瘤局部药物浓度,并且在一定时间内维持恒定有效的药物浓度,达到杀灭恶性肿瘤细胞,尽量不杀死周围正常细胞,降低药物的毒副作用,提高疗效,改善病人预后效果的目的。因此,该方法作为一种有效的治疗恶性肿瘤的新方法已引起了国内外医药界人士、生产厂家的广泛关注。例如美国的 Johns Hopkins Medical Institutions 等用聚酞、乙烯-醋酸乙烯共聚物作为载体制备抗肿瘤药物亚硝基脲氮芥(BCNU)药物释放体系,取得了令人鼓舞的结果。我国在该领域的研究虽然起步较晚,但起点较高,在用胶原基、聚乳酸、甲壳素、聚乙醇醇等作为药物载体进行抗肿瘤药物研究方面,已取得进展。

Aoyagi T 等通过将抗肿瘤药物与智能聚合物材料(如温度敏感型聚合物)结合,研制出了一系列靶向控释药物体系。他们利用化学键合法将药物与材料进行有机结合,或是将药物通过物理方法包埋于聚合物微粒(由聚氧化乙烯、聚天门冬氨酸共聚物)中,从而达到控释的目的。另一方面,人们已知聚异丙基丙烯酰胺[Poly(N-isopropylacrylamide), PIPAAm]具较低的严格的溶解温度(LCST, 32℃), PIPAAm 在高于和低于 LCST 时会发生相的反转,利用其在不同温度时的相变反应,制备热敏感型药物载体,从而增强聚合物微粒的定位作用。此温度敏感型微粒体系可望产生随着温度调控的药物选择性聚集释放。

Storm G 等认为抗肿瘤药物释放剂型中,溶蚀微粒载体靶向释放的极限和潜能对药物释放体系来说是最为关键的。多年来,在溶蚀类药物载体中对脂质体的关注最为普遍,他们也将脂质体作为研究肿瘤靶向系统的载体进行研究。其中,最为紧要的,应用时脂质体预期的使用方法应与脂质体的体内行为相匹配。因此,对第一代和近来发展的第二代脂质体(进行了表面修饰的脂质体,如具免疫性质的脂质体、长循环脂质体)在体内的情况,如到达靶向局部、定时(定向)的药物控制释放、以及合理靶向释放的潜在靶向位置等,均进行了讨论,进行了几例脂质体化疗药