

- [5] 樊鹏程, 李茂星, 贾正平, 等. RP-HPLC 同时测定不同产地独一味药材中 4 种环烯醚萜苷[J]. 中草药, 2010, 41(3): 483-485.
- [6] PAN Z, GAO Y L, ZHANG T, et al. HPLC determination of iridoid glycosides and phenylethanoid glycosides in roots of *Lamiophlomis rotata* [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2011, 42(2): 279-281.
- [7] FAN P C, MA H P, JING L L, et al. Simultaneous isolation and preparation of four iridoid glycosides from *Lamiophlomis rotata* by preparative RP-HPLC [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2012, 43(4): 699-701.
- [8] WEI L L, QIU J G, LI M X, et al. Quality standard of Iridoid Glycosides capsule of *Lamiophlomis rotata* [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2013, 19(22): 137-140.
- [9] ZHONG S H, GU R, WANG L X, et al. Simultaneous determination of seven constituents in *Lamiophlomis rotata* by HPLC [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2014, 39(22): 4373-4378.
- [10] WU C M, WANG S H, HU G X, et al. Determination the concentration of citalopram and its metabolites in rat plasma by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Clin Pharmacol(中国临床药理学杂志), 2014, 30(12): 64-67.
- [11] LEI X W, WANG S H, HU G X, et al. Rapid determination of CYP2C9 activity by UPLC-MS/MS [J]. China Pharm(中国药师), 2014, 17(11): 1804-1808.
- [12] CHEN J M, WANG S H, ZHOU Y F, et al. Determination of moxifloxacin in human plasma using ultra performance liquid chromatography tandem quadrupole mass spectrometry[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2014, 31(12): 1503-1507.
- [13] ZOU X H, WANG S H, HU G X, et al. Rapid determination of losartan and its metabolite UPLC-MS/MS[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2014, 31(6): 727-731.
- [14] ZOU X H, WANG S H, ZHOU Y. Determination of warfarin and its metabolite in human plasma using ultra performance liquid chromatography tandem quadrupole mass spectrometry (UPLC-MS/MS) [J]. China Pharm(中国药师), 2015, 18(3): 11-14.
- [15] GUO M, WANG F T, WANG X L, et al. Content research of shanzhiside methylester and 8-O-acetylshanzhiside methylester in *Lamiophlomis rotata* (Benth.) Kudo with different growing periods [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2011, 31(1): 124-126.

收稿日期: 2015-08-17

积雪草酸脂质纳米粒的大鼠口服吸收研究

黄夏樱, 张雅雯, 尹丽娜, 王胜浩* (浙江省医学科学院, 杭州 310013)

摘要: 目的 考察大鼠口服积雪草酸纳米结构脂质载体(asiatic acid loaded nanostructured lipid carriers, AA-NLC)的口服吸收情况。方法 建立清醒大鼠胆汁引流模型, 按 $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的剂量灌胃给予 AA-NLC 和积雪草酸(asiatic acid, AA)原料(对照组), 采用柱前衍生化 HPLC 检测胆汁药物浓度, 考察 AA 纳米粒的吸收状况。结果 大鼠口服 AA-NLC 后, 药物排泄峰值 $C_{\max}$ 是对照组的 1.7 倍, 达峰时间 $T_{\max}$ 显著慢于对照组 ($P < 0.05$), AA-NLC 的消除慢于对照, 其消除半衰期 $T_{1/2}$ 是对照组的 2.7 倍, 与纳米粒吸收有关的药时曲线下面积 $\text{AUC}_{0-24 \text{ h}}$ 与对照组相比提高了 150%。结论 新建立的口服吸收评价方法, 初步评价 AA-NLC 大鼠灌胃后的吸收特性, AA 制备成纳米结构脂质载体后可增加口服生物利用度。

关键词: 积雪草酸; 纳米结构脂质载体; 胆汁引流模型; 口服吸收

中图分类号: R969.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2016)04-0444-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.04.015

Oral Absorption of Asiatic Acid Lipid Nanoparticles in Rats

HUANG Xiaying, ZHANG Yawen, YIN Lina, WANG Shenghao* (Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou 310013, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate oral absorption of asiatic acid loaded nanostructured lipid carriers (AA-NLC) in rats. **METHODS** Biliary drainage model was established in conscious rats and pre-column derivatization HPLC was used to determine the concentration of AA in bile after oral administration of AA-NLC and AA (the control group) to rats respectively at

基金项目: 浙江省新世纪 151 人才工程(第二层次); 浙江省医学重点学科群(XKQ-010-001)

作者简介: 黄夏樱, 女, 硕士生 Tel: (0571)88215622 E-mail: cheery11224598@163.com *通信作者: 王胜浩, 男, 博士, 研究员 Tel: (0571)88215622 E-mail: wshenghao@126.com

the dosage of 50 mg·kg⁻¹. The absorption of AA nanoparticles was evaluated by comparing the concentrations of drugs. **RESULTS** *In vivo* study showed that the $C_{\max}$ of AA-NLC group was 1.7 times of the control group. The $T_{\max}$ of AA-NLC group prolonged significantly ($P<0.05$) in biliary excretion and the elimination half-life $T_{1/2}$ was 2.7 times of the control group. And the $AUC_{0\rightarrow24\text{ h}}$ increased to 150% compared to the control group. **CONCLUSION** The new assessment method can evaluate oral absorption of AA-NLC preliminarily. Nanostructured lipid carriers can increase the oral bioavailability of AA in rats.

KEY WORDS: asiatic acid; nanostructured lipid carriers; biliary drainage model; oral absorption

积雪草酸(asiatic acid, AA)是伞形科积雪草属植物积雪草 *Centella asiatica* (L.) Urb.在体内发挥药效的主要有效成分之一^[1-3],但其口服吸收差,体内血药浓度极低^[4],检测困难。由于AA的最大吸收波长在200 nm附近^[5-6],采用短波长检测生物样品中药物浓度,干扰较大。虽然色谱-质谱联用方法不失为一种选择,但样品的前期处理涉及固相萃取等过程,另外AA的结构不易形成稳定的碎片离子、碎片离子响应值低等原因^[7],一定程度上也妨碍这一技术的应用。

AA经肠道吸收后在肝脏中发生二相代谢,主要产物为AA的葡萄糖醛酸和硫酸酯结合物,Chasseaud等^[8]采用同位素标记法发现这些代谢产物主要通过胆汁排泄。与血浆样品比较,胆汁中AA代谢物浓度较高而且干扰成分少,样品前处理简单。因此,可以通过考察胆汁中AA的总浓度(葡萄糖醛酸和硫酸酯结合物)评价药物的吸收程度。

为改善AA的口服吸收,本课题组前期构建了纳米结构脂质载体(nanostructured lipid carriers, NLC),包载AA后进行了大鼠在体肠吸收试验,考察了纳米粒微观结构与促进小肠吸收之间的关系^[9]。为考察AA纳米结构脂质载体(asiatic acid loaded nanostructured lipid carriers, AA-NLC)在整体动物的口服吸收,本研究建立清醒大鼠胆汁引流模型^[10-12],借鉴实验室已有的柱前衍生化HPLC测定^[13],初步评价AA-NLC经大鼠灌胃给药后的吸收特点。

1 仪器与材料

1.1 仪器与试剂

LC-20AD 型高效液相色谱仪(日本 Shimadzu 公司); LCQ Advantage 质谱仪(美国 Thermo Finnigan 公司)。

AA-NLC(照文献制备^[10]); AA(广西昌洲天然产物开发有限公司,批号:20080625,纯度>99.0%);甘草次酸(glycyrrhetic acid, GA,内标,上海晨易生物科技有限公司,批号:200600509,

纯度:99%);硫酸酯酶(效价23 500 U·g⁻¹)和葡萄糖醛酸酶(效价10 000 U·mg⁻¹)购自Sigma-Aldrich公司;对甲苯胺(中国上海亭新化工试剂厂,分析纯,批号:2009010);1-乙基-(3-二甲氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐(EDC·HCl,上海共价化学科技有限公司);甲醇、乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

1.2 动物

SD大鼠10只,♂,体质量(200±20)g,浙江省实验动物中心提供,合格证编号:SCXK(浙)2014-0001。

2 方法与结果

2.1 柱前衍生化HPLC的建立与验证

2.1.1 色谱条件 参考已建立的方法^[4]并略作调整。Diamondsil C₈柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm);流动相为甲醇-乙腈(1:1)(A)、水(B),梯度洗脱:0~10 min, 25%B; 10~25 min, 11%→25%B, 25~28 min, 25%B;流速为1.0 mL·min⁻¹;柱温为25℃;检测波长为248 nm;进样量为20 μL。

2.1.2 标准溶液的配制 分别精密称取AA和GA 50 mg,各置50 mL量瓶,用甲醇溶解并定容,得AA和GA贮备液(1 mg·mL⁻¹)。4℃保存,3个月稳定(4℃放置3个月,AA与GA的RSD分别为3.4%和4.4%)。

精密移取GA贮备液1 mL置25 mL量瓶中,用甲醇定容,摇匀得40 μg·mL⁻¹的GA溶液。分别精密移取AA贮备液适量和上述GA溶液25 μL置干燥试管中,室温下氮气吹干,残渣用50 μL空白胆汁混匀,最终制成AA浓度为0.75, 1.5, 5, 30, 60, 75 μg·mL⁻¹的系列溶液。同法制备质控样品(1.5, 30, 60 μg·mL⁻¹)。

2.1.3 酶解和衍生化处理 精密移取GA溶液25 μL置干燥试管中,氮气吹干,残渣用胆汁样品50 μL溶解,用0.02 mol·L⁻¹乙酸调至pH 5,加入硫酸酯酶(用0.02 mol·L⁻¹乙酸钠缓冲液溶解制成0.11 U·μL⁻¹的溶液)和葡萄糖醛酸酶(用0.02 mol·L⁻¹乙

酸钠缓冲液溶解制成 $2.5 \text{ U} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 溶液)各 $10 \mu\text{L}$, 37°C 水浴下酶解 24 h 后立即取出, $12\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min 。将上清液移至另一试管, 加入甲基叔丁基醚 1 mL 提取, 涡旋 5 min , $12\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min , 取上清液用氮气吹干。残渣加入 EDC·HCl 溶液($1.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的二氯甲烷溶液, 新鲜配制) $350 \mu\text{L}$ 和对甲苯胺溶液($1.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的二氯甲烷溶液, 新鲜配制) $150 \mu\text{L}$, 涡旋 5 min , 30°C 水浴避光反应 3 h , 进行衍生化, 氮气吹干, 残余物用甲醇: 乙腈: 水($37.5: 37.5: 25$) $100 \mu\text{L}$ 溶解, 混匀, $12\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min , 吸取上清液进样, 按“2.1.1”项下色谱条件测定。

2.2 AA 和 GA 衍生化产物结构的初步确证

分别以 AA 和 GA 为原料, 加对甲苯胺和 EDC·HCl, 按“2.1.3”项下方法进行衍生化反应。经质谱分析(离子源 ESI; 正、负离子检测模式; 碰撞气: 极高纯度氮气; 雾化气: 高纯度氮气;

毛细管电压: 3.5 kV ; 雾化气压: 30 psi ; 干燥气流速: $10 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$; 干燥器温度: 350°C ; 质量扫描范围: m/z $50 \sim 1\,500$ 。AA 衍生化产物主要检测到分子离子峰为 $578.8(\text{M-H})$ 和 $1\,177.5(2\text{M}+\text{Na})$, 为 AA 与对甲苯胺反应成酰胺键失去一分子水的产物; 在 GA 衍生化中检测到的分子离子峰为 $558.5(\text{M-H})$ 和 $1\,141.5(2\text{M}+\text{Na})$, 为 GA 与对甲苯胺反应成酰胺键失去一分子水的产物。

2.3 方法学考察

2.3.1 专属性试验 大鼠口服 AA 后, 胆汁中主要代谢产物为葡醛酸结合物和硫酸酯结合物^[9], 通过专属性酶解方法, 将结合物转变成游离的原型药物 AA, 柱前衍生化后检测, 既提高了 HPLC 检测灵敏度, 又增加了方法的选择性。采用梯度洗脱, 使 AA 衍生物在 10 min 左右出峰, GA 衍生物在 19 min 左右出峰, 空白胆汁中的内源性杂质对两者检测均无干扰, 显示良好的专属性。色谱图见图 1。

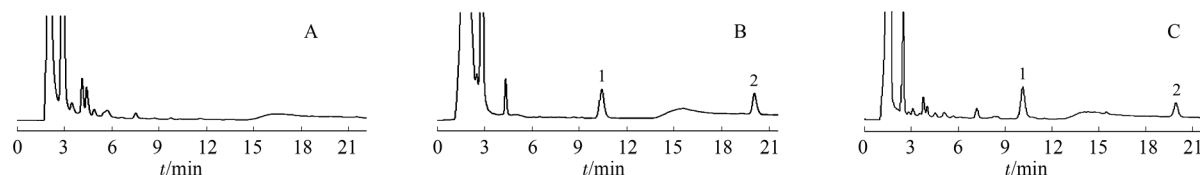


图 1 专属性试验图谱

A-大鼠空白胆汁; B-质控样品($\text{AA } 30 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $\text{GA } 20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$); C-大鼠口服 AA-NLC 后 6 h 的胆汁样品; 1-AA 衍生物; 2-GA 衍生物。

Fig. 1 HPLC chromatograms of specific test

A-blank rat bile; B-quality control sample($\text{AA } 30 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $\text{GA } 20 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$); C-rat bile sample after oral administration of AA-NLC for 6 h ; 1-AA derivative; 2-GA derivative.

2.3.2 线性试验 取“2.1.2”项下系列标准溶液, 按“2.1.3”项下方法操作, 以 AA 浓度(C)对 AA 与 GA 的峰高比值(y)线性回归, 得回归方程: $C=33.084y-1.9027$, $r=0.9996$, 结果在 $0.75 \sim 75 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好。

2.3.3 精密度、准确度和方法回收率试验 取“2.1.2”项下各浓度的质控样品, 分别于 1 d 内测定 5 次和连续 5 d 测定, 考察日内和日间精密度。结果表明, 低、中、高浓度样品的日内 RSD 分别为 5.3% , 2.2% 和 1.4% ; 日间 RSD 分别为 5.9% , 2.7% 和 2.7% ; 准确度分别为 $(94.4 \pm 5.0)\%$, $(95.5 \pm 2.1)\%$ 和 $(101.2 \pm 1.4)\%$ ($n=5$)。方法回收率在 $94.4\% \sim 101.2\%$ 。

2.3.4 提取回收率试验 取“2.1.2”项下的质控样品, 按“2.1.3”项下方法操作, 通过比较相应浓度纯溶剂样品的峰高计算提取回收率。结果表明, 低、中、高浓度样品中 AA 的回收率分别为

$(80.4 \pm 2.6)\%$, $(94.0 \pm 7.1)\%$, $(93.7 \pm 0.6)\%$ ($n=5$), GA 的回收率均约为 70% 。

2.3.5 稳定性试验 溶液稳定性: 取 $30 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的质控样品, 按“2.1.3”项下处理后分别于 $0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 \text{ h}$ 测定 AA 衍生物含量, 结果溶液在 24 h 内稳定, RSD 为 2.6% 。

冻融及低温稳定性: 取 $1.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $60 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的质控样品分别冻融循环 2 次, 以及 -20°C 保存 30 d , 然后按“2.1.3”项下处理检测。结果表明, 冻融后样品的 RSD 为 3.7% 和 4.1% ; 冷冻保存 30 d 样品的 RSD 均为 4.3% 。结果表明 2 次冻融及冷冻保存不影响样品的稳定性。

2.4 药动学试验

2.4.1 试验方案 取健康 SD 大鼠 10 只, ♂ , 随机分成 2 组, 每组 5 只, 试验前禁食 24 h , 自由饮水。参考文献方法^[11-13]: 戊巴比妥钠麻醉 ($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 背部固定, 沿腹中线打开腹腔, 胆

总管插管,并结扎固定,缝合创口,采集空白胆汁,待动物清醒后以 $50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的剂量分别灌胃给予 AA-NLC(分散于 $1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的泊洛沙姆 188 水溶液中,药物浓度为 $5\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)和 AA 原料(以 0.5%羧甲基纤维素钠配制成混悬液,药物浓度为 $5\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,作对照组),于给药后 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48 h 采集胆汁,记录胆汁体积。吸取不同时间点胆汁 $50\text{ }\mu\text{L}$,按“2.1.3”项下方法处理后测定药物含量。

2.4.2 吸收动力学数据分析^[4,14] 胆汁排泄率能比较直观地反映药物在体内的药动学过程,计算公式如下:胆汁排泄率($\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}$)=各时间段胆汁排泄量/排泄时间。利用 PKS 1.0 药物统计软件计算药动学参数,结果见表 1。药峰浓度 C_{max} 和达峰时间 T_{max} 为实测值,药时曲线下面积 AUC_{0-t} 通过梯形法计算得到。采用 SPSS 16.0 统计分析软件进行 t 检验。

表 1 主要药动学参数 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

Tab. 1 Main pharmacokinetic parameters ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

参数	AA-NLC 组	AA 对照组
T_{max}/h	3.80 ± 1.30	2.80 ± 1.30
$C_{\text{max}}/\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}$	38.54 ± 8.64	22.10 ± 4.45
$T_{1/2}/\text{h}$	3.96 ± 0.95	1.47 ± 0.59
$\text{AUC}_{0-24\text{ h}}/\mu\text{g}$	263.20 ± 66.55	104.84 ± 27.61

2.4.3 大鼠 AA-NLC 口服后的吸收动力学 AA-NLC 和 AA 原料分别经灌胃给药,通过清醒大鼠胆汁引流模型,收集不同时间段的胆汁,经酶解、液液提取富集和柱前衍生化的 HPLC 检测不同时间段胆汁中的药物总浓度。胆汁中总 AA 排泄速率-时间曲线见图 2。

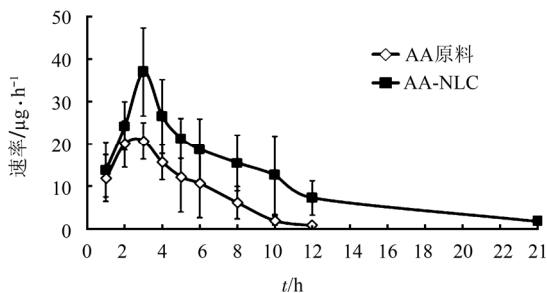


图 2 大鼠的胆汁排泄速率-时间曲线($n=5$)

Fig. 2 Biliary excretion rate-time curves in rats($n=5$)

由图 2 可见, NLC 组药物经胆汁排泄的 T_{max} 显著慢于对照组($P<0.05$); C_{max} 是对照组的 1.7 倍; 消除半衰期 $T_{1/2}$ 是对照组的 2.7 倍。提示 AA 经

NLC 制剂化后,体内药物水平有了明显提高,而且作用时间延长。 AUC_{0-t} 为反映药物的吸收程度的指标, NLC 的 $\text{AUC}_{0-24\text{ h}}$ 是原料组的 2.5 倍,显示其口服吸收效果较好。

3 讨论

胆汁中 AA 主要是以 AA 的代谢产物葡醛酸结合物和硫酸酯结合物存在,故需选用高专属性酶将代谢产物酶解为 AA,然后采用液液提取方法将 AA 富集,再采用柱前衍生化 HPLC 检测,能大大提高检测的灵敏度,提高专属性。

本研究根据 AA 代谢物以胆汁排泄为主的特征,建立清醒大鼠胆汁引流模型,考察 NLC 对提高 AA 口服生物利用度的影响。难溶性的 AA 经纳米化之后,体内药物水平相比 AA 原料有了明显提高,而且体内作用时间更长,本实验中 AA-NLC 的 $\text{AUC}_{0-24\text{ h}}$ 是 AA 原料的 2.5 倍,提示 AA 经 NLC 制剂化之后,生物利用度明显提高。

前期 X 光衍射研究表明^[9], NLC 处方中存在的液态脂质油酸可能部分改变了 AA 在 NLC 中的微观结构,晶体有序状况被扰乱,药物的结晶度降低,从而使更多的 AA 以无定形或分子形态存在,这有利于药物的溶出进而促进肠道吸收。用脂质类材料制备的纳米粒,在肠道可经淋巴通道吸收进入体循环^[15-16],这可避免药物的首过效应,进一步改善 AA 的生物利用度。NLC 为混合脂质材料所制备的纳米粒,同样可以直接被小肠 M 细胞摄取,在小肠绒毛部位实现跨膜转运。

胃肠道黏液层是纳米粒吸收过程中的最大屏障^[17]。NLC 的疏水性是限制肠内集合淋巴结吸收的主要因素, NLC 经过亲水性修饰后能增加对黏液层的亲和力,从而进一步提高经 M 细胞的淋巴途径吸收。

REFERENCES

- [1] HASHIM P, SIDEK H, HELAN M H, et al. Triterpene composition and bioactivities of *Centella asiatica* [J]. Molecules, 2011, 16(2): 1310-1322.
- [2] RUSZYMAH B H, CHOWDHURY S R, MANAN N A, et al. Aqueous extract of *Centella asiatica* promotes corneal epithelium wound healing *in vitro* [J]. J Ethnopharmacol, 2012, 140(2): 333-338.
- [3] BELCARO G, MAQUART F X, SCOCCIANTI M, et al. TECA(titrated extract of *Centella asiatica*): new microcirculatory, biomolecular, and vascular application in preventive and clinical medicine. A status paper [J]. Panminerva Med, 2011, 53(3 Suppl 1): 105-118.
- [4] ZHANG Y W, YIN L N, LIANG Z H, et al. Study on

- pharmacokinetics of asiatic acid in rats [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2015, 32(3): 314-317.
- [5] GRIMALDI R, DE PONTI F, D'ANGELO L, et al. Pharmacokinetics of the total triterpenic fraction of *Centella asiatica* after single and multiple administrations to healthy volunteers. A new assay for asiatic acid [J]. J Ethnopharmacol, 1990, 28(2): 235-241.
- [6] RAFAMANTANANA M H, ROZET E, RAOELISON G E, CHEUK K, et al. An improved HPLC-UV method for the simultaneous quantification of triterpenic glycosides and aglycones in leaves of *Centella asiatica* (L.) Urb (APIACEAE) [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2009, 877(23): 2396-2402.
- [7] NAIR S N, MENON S, SHAILAJAN S. liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometric method for quantification of asiatic acid from plasma: application to pharmacokinetic study in rats [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2012, 26(17): 1899-1908.
- [8] CHASSAUD L F, FRY B J, HAWKINS D R, et al. The metabolism of asiatic acid, madecassic acid and asiaticoside in the rat [J]. Arzneimittelforschung, 1971, 21(9): 1379-1384.
- [9] ZHANG Y W, YIN L N, LIANG Z H, et al. Microstructure of asiatic acid lipid nanoparticles and its effect on intestinal absorption kinetics [J]. Chin New Drugs J(中国新药杂志), 2014, 23(19): 2284-2290.
- [10] LENG D D, HAN W J, RUI Y, et al. *In vivo* disposition and metabolism of madecassoside, a major bioactive constituent in *Centella asiatica* (L.) Urb [J]. J Ethnopharmacol, 2013, 150(2): 601-608.
- [11] RODRÍGUEZ-ORTIGOSA C M, BANALES J M, OLIVAS I, et al. Biliary secretion of S-nitrosoglutathione is involved in the hypercholesterolemia induced by ursodeoxycholic acid in the normal rat [J]. Hepatology, 2010, 52(2): 667-677.
- [12] ZONG L, QU Y, LUO D X, et al. Preliminary experimental research on the mechanism of liver bile secretion stimulated by peppermint oil [J]. J Dig Dis, 2011, 12(4): 295-301.
- [13] ZHENG X C, WANG S H. Determination of asiatic acid in beagle dog plasma after oral administration of *Centella asiatica* extract by precolumn derivatization RP-HPLC [J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2009, 877(5/6): 477-481.
- [14] WANG S H, YIN L N, LIANG Z H, et al. Stereoselective behavior of a novel biodegradable racemic ketoprofen injectable implant in rats [J]. Chirality, 2007, 19(10): 769-774.
- [15] YUAN H, CHEN J, DU Y Z, et al. Studies on oral absorption of stearic acid SLN by a novel fluorometric method [J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2007, 58(2): 157-164.
- [16] DOYLE-MCCULLOUGH M, SMYTH S H, MOYES S M, et al. Factors influencing intestinal microparticle uptake *in vivo* [J]. Int J Pharm, 2007, 335(1/2): 79-89.
- [17] LAI S K, WANG Y Y, HANES J. Mucus-penetrating nanoparticles for drug and gene delivery to mucosal tissues [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2009, 61(2): 158-171.

收稿日期: 2015-10-25

离子色谱法测定注射用帕米膦酸二钠含量的测量不确定度评估

曹琳¹, 钱江²(1.宁波市药品检验所, 浙江 宁波 315048; 2.浙江医药高等专科学校, 浙江 宁波 315100)

摘要: 目的 对离子色谱法测定注射用帕米膦酸二钠含量的测量不确定度进行分析, 以找出影响不确定度的因素。方法 建立离子色谱法测定注射用帕米膦酸二钠含量的数学模型, 确定影响不确定度的因素, 并根据《测量不确定度评定与表示》(JJF1059.1-2012)中有关规定, 量化各不确定度分量, 计算合成不确定度从而得出测定结果的扩展不确定度。结果 测定结果的合成不确定度为 0.989%, 扩展不确定度为 1.98%, 注射用帕米膦酸二钠的含量为标示量的(99.29±1.98)%(*k*=2)。结论 测定结果的不确定度主要来源于离子色谱仪器、测定的重复性以及对照品的影响。建立的不确定度评估方法适用于离子色谱法测定注射用帕米膦酸二钠含量的不确定度评估。

关键词: 离子色谱法; 注射用帕米膦酸二钠; 不确定度评估

中图分类号: R917 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2016)04-0448-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.04.016

Evaluation of Measurement Uncertainty for the Determination of Pamidronate Disodium for Injection by Ion Chromatography

CAO Lin¹, QIAN Jiang²(1.Ningbo Institute for Drug Control, Ningbo 315048, China; 2.Zhejiang Pharmaceutical College, Ningbo 315100, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To evaluate the measurement uncertainty for the determination of pamidronate disodium for injection by ion chromatography, and find out the effect factors. **METHODS** The mathematical model was established, and the uncertainty was appraised according to JJF1059.1-2012. The various measurement uncertainties were quantified, and the

作者简介: 曹琳, 女, 硕士, 副主任药师 Tel: (0574)87834649 E-mail: portia1104@139.com