

速消酯胶囊的质量标准研究

苏玉娟, 李延雪, 隋 译

(鸡西市药品检验所, 黑龙江 鸡西 158100)

速消酯胶囊由葛根、草决明、龙胆、大黄、柴胡、甘草等组成, 具有降血脂、改善肝功能、抑制肝脏脂肪蓄积等作用, 是鸡西市某医院的医院制剂, 临床疗效好。为了有效地控制其质量, 本实验采用 TLC 法对其中的龙胆草、大黄、柴胡进行了定性鉴别, 制剂中葛根为君药, 其主要活性成分是以葛根素为代表的黄酮类成分, 因此同时采用 HPLC 法对葛根素进行了测定。

1 仪器、材料与试剂

HP1100 高效液相色谱仪, HT-300 超声清洗, UV-2550 紫外分光光度计, BP221S 电子天平。

大黄(批号 1249-0301)、柴胡对照药材(批号 0990-200001); 对照品: 葛根素(批号 110706-2004167)、大黄素(批号 110756-200110)、大黄酚(批号 110796-200310)、龙胆苦苷(批号 110770-200409)均由中国药品生物制品检定所提供, 速消酯胶囊由鸡西市某医院提供, 甲醇为色谱纯, 水为二次蒸馏水。

2 方法与结果^[1,2]

2.1 TLC 鉴别试验

2.1.1 龙胆草的薄层色谱鉴别: 精密称取胶囊内容物 3 g, 加甲醇 20 mL, 浸渍 12 h, 滤过, 滤液浓缩至 5 mL, 置中性氧化铝小柱上(120 目, 1 g, 内径 1.5 cm), 用甲醇洗脱至洗脱液无色, 洗脱液浓缩至约 2 mL, 作为供试品溶液; 另取按处方工艺制成的不含龙胆草的样品 3 g, 同法制成阴性对照液; 再取龙胆苦苷对照品, 加甲醇制成 0.5 mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液。吸取上述 3 种溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 GF₂₅₄ 薄层板上, 以三氯甲烷-甲醇-水(20:2:1)下层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(254 nm)下检视, 结果供试品色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 阴性试验无干扰(图 1-A)。

2.1.2 大黄的薄层色谱鉴别: 精密称取胶囊内容物 3 g, 加甲醇 20 mL, 超声处理 15 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加 2 mol/L 硫酸溶液 10 mL, 再加氯仿 10 mL, 加热回流 30 min, 分取氯仿层, 蒸干, 残渣加甲醇 2 mL, 作为供试品溶液; 另取按处方工艺制成的不

含大黄的样品 3 g, 同法制成阴性对照溶液; 再取大黄对照药材 0.1 g, 同法制成对照药材溶液, 再取大黄素、大黄酚对照品, 分别加甲醇制成 1 mg/mL 对照品溶液。吸取上述 5 种溶液各 5 μ L, 分别点于同一以 0.3% CMCNa 为黏合剂的硅胶 G 薄层板上, 以石油醚(30~60 $^{\circ}$ C)-甲酸甲酯-甲酸(15:5:1)的上层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 供试品色谱中, 在与对照品及对照药材色谱相应的位置上, 显相同的橙黄色斑点, 置氨蒸气中熏后, 变为红色, 阴性试验无干扰(图 1-B)。

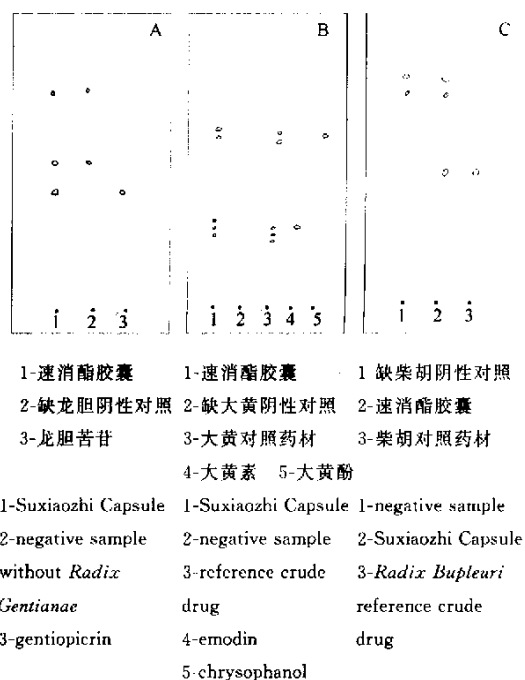


图 1 速消酯胶囊中龙胆(A)、大黄(B)和柴胡(C)的 TLC 图谱

Fig. 1 TLC Chromatograms of *Radix Gentianae* (A), *Radix et Rhizoma Rhei* (B), and *Radix Bupleuri* (C) in Suxiaozhi Capsule

2.1.3 柴胡的薄层色谱鉴别: 精密称取胶囊内容物 3 g, 加甲醇 20 mL, 超声处理 20 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加 2% NaOH 溶液 10 mL, 加热 30 min, 放冷, 加水饱和的正丁醇 10 mL, 振摇提取, 分取正丁

醇提取液蒸干,残渣加甲醇 2 mL 溶解,作为供试品溶液;另取按处方工艺制成的不含柴胡的样品 3 g,同法制成阴性对照溶液;再取柴胡对照药材 0.5 g,同法制成对照药材溶液。吸取上述 3 种溶液各 5 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-水(30:10:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 2% 对二甲氨基苯甲醛的 10% 硫酸乙醇溶液,105 $^{\circ}$ C 加热,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性试验无干扰(图 1-C)。

2.2 HPLC 法测定葛根素

2.2.1 色谱条件: Hypersil C₁₈ (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m) 色谱柱,流动相为甲醇-水(25:75),体积流量为 1.0 mL/min,检测波长为 250 nm,柱温为室温。

2.2.2 对照品溶液的制备:精密称取葛根素对照品 9.8 mg,置 100 mL 量瓶中,用 30% 乙醇稀释至刻度,即得,待用。

2.2.3 供试品溶液的制备:精密称取样品 0.5 g,置 100 mL 具塞的三角烧瓶中,精密加入 30% 乙醇 50 mL,称定质量,超声处理 30 min,放冷,再称定质量,用 30% 乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.2.4 阴性对照液的制备:按制备工艺制成缺葛根的阴性对照样品,按供试品溶液制备方法制备。

2.2.5 线性关系考察:精密吸取 2、4、6、8、10 μ L 上述对照品溶液注入高效液相色谱仪中,以峰面积为纵坐标,进样量为横坐标进行线性回归,得回归方程为 $Y = 12.73 + 4\,026.26 X$, $r = 0.999\,9$,结果表明,葛根素在 0.196~0.98 μ g 与峰面积呈良好的线性关系。

2.2.6 阴性对照试验:取对照品溶液、供试品溶液及阴性对照溶液 10 μ L,分别注入液相色谱仪,进行测定,结果阴性对照样品色谱图中,在葛根素峰位无色谱峰出现,见图 2。

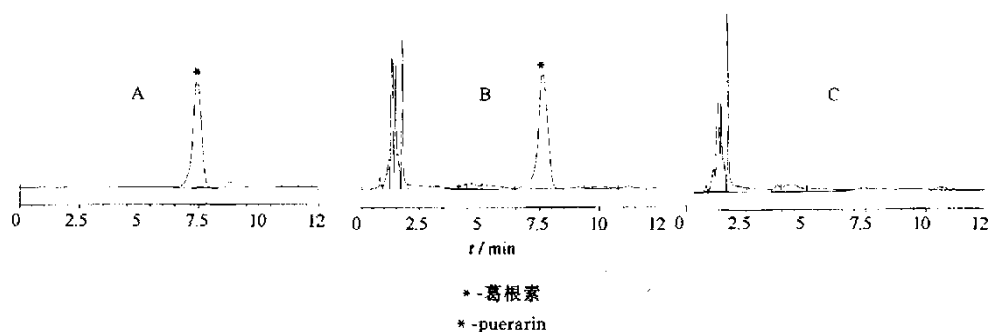


图 2 葛根素对照品(A)、速消酯胶囊(B)和缺葛根的阴性对照(C)的 HPLC 图谱

Fig. 2 HPLC Chromatograms of puerarin reference substance (A), Suxiaozhi Capsule (B), and negative sample without *Radix Puerariae* (C)

2.2.7 精密度试验:取 20 μ g/mL 的葛根素对照品溶液,按上述色谱条件进样 10 μ L,连续进样 5 次,测定峰面积值,计算得 RSD 为 0.16%。

2.2.8 稳定性试验:取供试品溶液,分别于 0、4、8、12、24 h 进样 10 μ L,结果峰面积积分值的 RSD 为 1.1%。

2.2.9 重现性试验:取批号 20050316 的样品 5 份,制备供试品溶液,测定,葛根素的平均质量分数为 4.402 1 mg/g, RSD 为 1.97%。

2.2.10 回收率试验:采用加样回收法。取含葛根素 4.5 mg/g 的样品 6 份,每份约 0.25 g,分别精密加入约 1.1 mg 的葛根素对照品,按供试品溶液的制备方法处理,测定,计算回收率,结果平均回收率为 95.18%, RSD 为 1.26% ($n=6$)。

2.2.11 葛根素测定:分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液 10 μ L,注入液相色谱仪中,按上述色谱

条件测定,用外标法计算样品中葛根素的质量分数,结果见表 1。

表 1 速消酯胶囊中葛根素的测定结果 ($n=3$)

Table 1 Determination of puerarin in Suxiaozhi Capsule ($n=3$)

批号	葛根素/(mg $\cdot$ g ⁻¹)
20050316	4.118 4
20050319	4.526 3
20050320	4.421 9

3 讨论

对于制剂中葛根素的提取,《中国药典》2005 年版一部葛根项下采用的 30% 乙醇提取,有关文献报道^[1]采用甲醇提取,本实验对二者进行了比较,结果 30% 乙醇提取的完全,分离效果好。

在 200~400 nm 波长进行对照品溶液紫外扫描,结果表明,葛根素在 250 nm 波长处有最大吸

收,故选择此波长为检测波长。

References:

- [1] Li M, Li Z. Study on quality standard for Yanqingsong Granule [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药). 2004, 26 (1):

23-24.

- [2] Institute of Pharmacy, Chinese Academy of Medical Science. *Researches on Effective Components of Chinese Traditional Herbal Drugs* (中草药有效成分研究) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1972.

均匀设计法优选菝葜总皂苷的超声提取工艺

舒孝顺¹, 吕金海², 高中洪³, 杨祥良³

(1. 长沙理工大学 生物与食品工程系, 湖南 长沙 410076; 2. 怀化学院 生物系, 湖南 怀化 418000; 3. 华中科技大学药物研究所, 湖北 武汉 430074)

菝葜为百合科菝葜属植物 *Smilax china* L. 的根茎, 又名金刚藤, 具有消肿止痛、祛风利湿、活血化痰及抗肿瘤等作用^[1~3], 临床单用或与其他药物配伍用于各种炎症性疾病, 如妇科盆腔炎症及炎症性包块、前列腺炎、类风湿性关节炎及各种肿瘤等, 均取得满意疗效。菝葜属植物主要分布于全球热带地区, 共有 300 种左右, 我国有 60 种和一些变种, 大多数分布于长江以南各省区, 菝葜属植物资源丰富。皂苷类成分是菝葜属植物的主要成分, 其中主要是甾体皂苷元及其苷。药理研究发现其具有抗炎、抗肿瘤、抗凝血等重要药理活性^[3~5], 主治妇科盆腔炎症及炎症性包块的金刚藤糖浆及胶囊, 其用于制剂的提取物浸膏就是用水煮醇沉工艺制备而来, 但存在着服用量大等缺点, 而且目前也主要以薯蓣皂苷元或其苷作为控制制剂质量的指标。为了提高其制剂水平, 进一步提高其疗效, 有必要对其有效部位的提取工艺进行进一步的研究。总皂苷的传统提取方法多采用水煮和有机溶剂回流或浸取法, 皂苷容易被水解破坏, 得率往往较低, 而且生产周期长, 能耗高。超声波提取技术与传统方法相比, 具有收率高、生产周期短、不用加热、有效成分不被破坏等优点。为了更好地利用菝葜, 提高菝葜总皂苷的收率, 本研究采用了均匀设计法进行菝葜总皂苷超声提取工艺研究。以筛选菝葜总皂苷超声提取的最佳工艺条件。

1 仪器与试剂、材料

JY98—Ⅲ 型超声细胞粉碎机(上海新芝生物技术研究所、宁波新芝科器研究所, 功率为 0~2 000 W); BS300S 型电子分析天平; 7500 紫外/可见分光光度计(上海天美科学仪器有限公司)。菝葜根茎产于湖南邵阳地区, 粉碎干燥备用; 香草醛、高氯酸、冰

醋酸均为分析纯; 甾体总皂苷对照品购于中国药品生物制品检定所。

2 方法与结果

2.1 总皂苷的测定

2.1.1 总皂苷标准曲线的制备: 精密称取甾体总皂苷对照品, 用甲醇配成 248 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液。分别精密吸取 0.1、0.15、0.20、0.25、0.30、0.35、0.40 mL 对照品溶液及 0.40 mL 甲醇于 8 支 10 mL 试管中, 于 70 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴锅上蒸干, 各试管再分别加入 0.20 mL 5% 香草醛冰醋酸溶液及 0.80 mL 高氯酸, 摇匀后置于 70 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴锅中保温 15 min, 取出迅速加入 4 mL 冰醋酸摇匀, 在 462 nm 处测定吸光度(A)。以加甲醇管为空白对照, 以质量浓度(C)对 A 回归, 得方程 $A = 0.0181C - 0.0043$, $r = 0.999$, 表明甾体总皂苷在 5~20 $\mu\text{g/mL}$ 与吸光度线性良好。

2.1.2 测定: 超声提取结束后提取液滤过, 滤渣用 50 mL 相应溶剂洗涤、滤过, 合并滤液, 回收至干, 再加 20 mL 热水溶解, 以正丁醇 120 mL 分 3 次萃取, 合并正丁醇萃取液, 回收至干, 再用甲醇定容到 50 mL, 从中取 1 mL 用甲醇稀释定容到 10 mL, 吸取 0.20 mL, 按总皂苷标准曲线的制备项下测其吸光度, 根据回归方程计算出相应的总皂苷量, 计算总皂苷的收率。

2.2 均匀设计法进行工艺条件的筛选: 用均匀设计法, 考察 3 个因素即溶剂体积与菝葜根粉质量比(液固比)(X_1)、超声提取时间(X_2)和超声功率(X_3)对菝葜总皂苷超声提取率的影响。做 7 个样本, 每个样本精确称取预先处理好的菝葜根茎粉末(过 100 目筛) 5.00 g, 放入 250 mL 具塞锥形瓶中, 以相应溶

收稿日期: 2005-06-20

作者简介: 舒孝顺(1964—), 湖南溆浦人, 副教授, 长沙理工大学生物工程教研室主任, 现攻读中南大学药学院药学专业博士后, 现主要从事中药、天然药物的提取、药理和新药开发研究, 发表科研论文 30 余篇。E-mail: sxs732@yahoo.com.cn