

## 复方益精胶囊的稳定性研究

邓思珊<sup>1</sup>, 阙慧卿<sup>1</sup>, 林 绶<sup>1</sup>, 曹剑虹<sup>1</sup>, 吕绍光<sup>2</sup>

(1. 福建省医学测试重点实验室 福建省医学科学研究所, 福建 福州 350001; 2. 福建省立医院, 福建 福州 350001)

复方益精胶囊由山茱萸、淫羊藿、巴戟天等 10 味中药提取液浓缩成浸膏, 配以植物花粉和紫河车细粉组成, 具有补肾益精, 清热利湿的作用, 临床用于治疗不育症。山茱萸为方中的君药, 其所含的熊果酸为主要成分。为控制其内在质量, 本实验采用薄层扫描法测定山茱萸中的熊果酸, 以熊果酸量变化为指标, 用化学动力学原理<sup>[1]</sup>考察复方益精胶囊稳定性。

### 1 仪器与试剂

岛津 CS—930 型薄层扫描仪, YGC—60 II 数显烘箱, 微量点样器 (1~5 μL, Drummond), 高效硅胶 G 薄层板 (10 cm×20 cm, 青岛海洋化工厂), 熊果酸对照品 (中国药品生物制品检定所提供), 所用试剂均为分析纯。

### 2 测定方法

2.1 TLC 条件: 硅胶 G 薄层板 (10 cm×20 cm), 展开剂: 氯仿-丙酮-醋酸乙酯 (20:3:8); 显色剂: 10% 硫酸乙醇溶液; 反射法锯齿扫描测定, λ<sub>S</sub>=520 nm, λ<sub>R</sub>=700 nm; 狭缝: 1.2 mm×1.2 mm。

2.2 标准曲线的绘制: 精密称取熊果酸对照品适量, 配制一系列质量浓度为 0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1.0 mg/mL 的溶液, 取 5 μL 点于同一硅胶 G 高效板上, 展开, 取出, 晾干后, 喷显色剂, 于 105 ℃ 烘 5~7 min, 斑点显清晰的紫红色, 放凉后, 盖上干净的玻璃板, 四周用胶布封好, 扫描测定。以积分值为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 计算回归方程:  $Y=137\ 189.16 X-456$ ,  $r=0.997\ 7$ 。结果表明熊果酸在 0.05~1.0 mg/mL 内线性关系良好。

2.3 样品测定: 取益精胶囊若干粒, 倒出内容物, 研细混匀, 精密称取 10 g, 用滤纸包裹置索氏提取器中, 加乙醚 100 mL, 回流 4 h 至无色, 回收乙醚, 残渣加 3~4 倍量水溶解, 静置 24 h, 滤过, 将不溶物用 NaOH 碱化, 调 pH 10~11, 溶解完全, 静置, 滤过, 滤液加 HCl 酸化, 调 pH 2~3, 静置, 滤过, 得沉淀, 沉淀用甲醇溶解, 定容至 10 mL, 作为供试品溶液。用微量点样器吸取各批溶液 5 μL 和对照品溶液 5 μL, 点样于同一高效薄层板上, 进行测定。

### 3 稳定性实验

3.1 实验方法: 将样品密塞于锥形瓶中, 分别置 40、50、60、70、80 ℃ 恒温烘箱中, 间隔一定时间取样, 进行测定。

3.2 实验结果: 采用经典恒温法进行预测实验。以各实验温度下的 ln C 对 t 作线性回归, 均得到符合一级反应的直线方程, 从而求出各温度下的速度常数 k, 结果见表 1。

以各温度下的 ln k 对其绝对温度倒数 1/T 作回归分析, 得直线方程  $\ln k=14.236\ 4-6\ 922.932\ 5(1/T)$ ,  $r=0.997\ 8$ 。该方程完全符合实验温度对反应速度影响的 Arrhenius 公式  $\ln k=\ln A-E/RT$ , 由此可导出室温或其它温度下相应的 k 值, 进而根据一级反应速度方程式求出相应温度下药物降解至一定比例的时间。各温度下有效期 t<sub>0.9</sub> 的求算公式为  $t_{0.9}=0.105/k$ , 表 2 列出了益精胶囊在几个温度下的有效期。

表 1 复方益精胶囊热稳定性实验结果

Table 1 Results of thermal stability of Compound Yijing Capsules

温度/℃	t/d	熊果酸/ (μg·g <sup>-1</sup> )	ln C	回归结果
40	0	537	6.286 0	$r=0.994\ 4$ $k=0.000\ 407\ 0\ d^{-1}$
	20	534	6.280 4	
	40	530	6.272 9	
	60	525	6.263 4	
	80	520	6.253 8	
50	0	537	6.286 0	$r=0.992\ 9$ $k=0.000\ 728\ 5\ d^{-1}$
	20	530	6.272 9	
	40	525	6.263 4	
	60	514	6.242 2	
	80	507	6.228 5	
60	0	537	6.286 0	$r=0.998\ 6$ $k=0.001\ 396\ 5\ d^{-1}$
	20	524	6.261 5	
	40	510	6.234 4	
	60	496	6.206 6	
	80	480	6.173 8	
70	0	537	6.286 0	$r=0.999\ 4$ $k=0.002\ 475\ d^{-1}$
	20	511	6.236 4	
	40	489	6.192 4	
	60	464	6.139 9	
	80	440	60.86 8	
80	0	537	6.286 0	$r=0.998\ 6$ $k=0.005\ 071\ d^{-1}$
	20	482	6.177 9	
	40	442	6.091 3	
	60	400	5.991 5	
	80	355	5.872 1	

(下转第 253 页)

1.2 试剂:卵蛋白,上海伯澳生物科技公司生产,批号:020817,临用前用生理盐水制成 0.5% 溶液。

1.3 动物:雄性家兔,2.2~2.4 kg,浙江省药品检验所动物中心提供,合格证号:浙实动质管第 98—36 号。豚鼠体重 260~310 g,雌雄兼有,上海市松江区松联实验动物场,合格证号:沪医动字第 02—52—2 号。

## 2 方法和结果

### 2.1 溶血与凝集试验

2.1.1 制备 2% 红细胞混悬液:自家兔耳动脉取血 20 mL,置于烧瓶内,用玻璃棒轻轻搅动,除去纤维蛋白,数分钟后,取出血液,加等量生理盐水,离心(1 500 r/min, 10 min),除去上清液;沉淀的红细胞再加生理盐水清洗,离心。如此重复直至上清液透明。经离心沉淀(3 000 r/min, 10 min)后,按红细胞的容积用生理盐水配成 2% 的红细胞混悬液。

2.1.2 测定方法及结果:取烤干试管 7 只,1 号试管中依次加入 0.04% 黄藤素葡萄糖注射液(A) 0.1 mL、5% 葡萄糖溶液(B) 2.4 mL、2% 红细胞悬液(C) 2.5 mL;2 号试管中依次加入 A 0.2 mL、B 2.3 mL、C 2.5 mL;3 号试管中依次加入 A 0.3 mL、B 2.2 mL、C 2.5 mL;4 号试管中分别加入 A 0.4 mL、B 2.1 mL、C 2.5 mL;5 号试管中依次加入 A 0.5 mL、B 2.0 mL、C 2.5 mL;6 号试管中依次加入 B 2.5 mL、C 2.5 mL;7 号试管中依次加入 2.5 mL 蒸馏水、C 2.5 mL,摇匀,置于 37 °C 保温箱中,分别于 0.5、1、2、3 h 观察是否有溶血及凝集现象。结果黄藤素葡萄糖注射液在 3 h 内未见溶血及凝集现象,而蒸馏水组出现明显溶血反应。

2.2 血管刺激性试验:取家兔 10 只,随机分成 2 组,每组 5 只。取 5 只家兔于一侧耳缘静脉滴注

0.04% 黄藤素葡萄糖注射液 10 mL/kg,每分钟 30 滴(药液质量浓度及滴注速度均与临床相同)。另 5 只家兔按同样方法静脉滴注等量 5% 葡萄糖溶液。每天 1 次,连续 7 d。观察静滴药液处静脉向心端 0~1、1~2、2~3 cm 处的血管及周围组织变化,并与 5% 葡萄糖溶液组对照。末次用药 24 h 后处死动物,在静滴药液处,分别按血流方向,每隔 1 cm 取血管连同周围组织,共 4 处,用 10% 甲醛固定,以做组织学检查。大体观察及组织学检查结果,两组对血管组织均无明显刺激作用,两组差异无显著性。

2.3 致敏性试验:豚鼠 24 只,随机分为 3 组,每组 8 只。0.04% 黄藤素葡萄糖注射液组、0.5% 卵蛋白阳性组及 5% 葡萄糖溶液阴性组。每只 ip 药液 0.3 mL,隔日 1 次,共 3 次。每组再分两批,每批每组 4 只。第 1 批在首次 ip 后的第 14 天,在后脚掌外侧静脉,分别 iv 0.04% 黄藤素葡萄糖注射液、0.5% 卵蛋白溶液及 5% 葡萄糖溶液,均为每只 2.0 mL,观察记录 2 h 内有无抓鼻、竖毛、咳嗽、呼吸困难、痉挛、休克、大小便失禁、死亡等过敏症状。第 2 批在首次 ip 后的第 21 天,按第 1 批方法观察结果。豚鼠经 3 次致敏后,于第 14 天和第 21 天诱导,黄藤素葡萄糖注射液组及 5% 葡萄糖溶液组均未见过敏反应。而 0.5% 卵蛋白溶液组则出现严重过敏反应。

## 3 结论

不同质量浓度黄藤素葡萄糖注射液在体外未见家兔红细胞溶血及凝集现象。与 5% 葡萄糖溶液比较,0.04% 黄藤素葡萄糖注射液对家兔耳缘静脉未见明显刺激反应。黄藤素葡萄糖注射液经 ip 致敏 3 次,分别于首次 ip 后的第 14 天和第 21 天 iv 给药诱导,均未见过敏症状。本实验结果为黄藤素注射液临床使用安全性提供初步的理论依据。

醋酸乙酯(20:3:8)展开效果更为理想,分离效果较好,斑点无拖尾现象。

复方益精胶囊内容物的热稳定性良好,它在溶液中的水解反应为伪一级反应。稳定性试验表明复方益精胶囊在常温下(20~25 °C)的有效期为 3 年半到 15 年,低温下贮存有效期有 12 年。

留存复方益精胶囊内容物的预测贮存期与实际贮存期吻合,说明实验的有效期预测结果对临床有实用价值。

## References:

- [1] Pang Y H, Lu C S. Prediction Method of Drug Stabilities (药物稳定性预测方法) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1984.

(上接第 220 页)

表 2 复方益精胶囊的有效期

Table 2 Expiry date of Comyound Yijing Capsules

温度/°C	k	t <sub>0.5</sub> /d
25	1.99×10 <sup>-4</sup>	530
20	8.48×10 <sup>-5</sup>	1 243
5	2.37×10 <sup>-5</sup>	4 440

## 4 讨论

样品用 10% 硫酸乙醇溶液显色,熊果酸斑点呈紫红色,在空气中 1 h 后逐渐消退,所以斑点展开显色后应立即进行扫描。实验表明以环己烷-氯仿-醋酸乙酯(20:5:8)和氯仿-丙酮-醋酸乙酯(20:3:8)为展开剂均有良好的分离效果,但以氯仿-丙酮-