

独一味环烯醚萜苷胶囊质量标准研究

尉丽力, 邱建国, 李茂星*, 张泉龙, 周珺, 贾正平

(兰州军区兰州总医院药剂科, 全军高原环境损伤防治重点实验室, 兰州 730050)

[摘要] **目的:** 制定独一味环烯醚萜苷胶囊的质量标准。**方法:** 以薄层色谱法对本品主成分进行定性鉴别, 采用一阶导数法测定总环烯醚萜苷含量, 高效液相色谱法测定山梗苷甲酯、8-*O*-乙酰山梗苷甲酯的含量。**结果:** 薄层色谱法样品与对照品在相同位置斑点清晰; 一阶导数分光光度法测得 3 批总环烯醚萜苷含量均 > 50%; 山梗苷甲酯、8-*O*-乙酰山梗苷甲酯与其他组分基线分离且峰形较好, 测得 3 批样品平均含量为 73.96, 72.43 mg·g⁻¹。**结论:** 该方法可以用于独一味环烯醚萜苷胶囊的质量控制。

[关键词] 独一味; 环烯醚萜苷胶囊; 质量标准

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)22-0137-04

[doi] 10.11653/syfy2013220137

Quality Standard of Iridoid Glycosides Capsule of *Lamiophlomis rotata*.

WEI Li-li, QIU Jian-guo, LI Mao-xing*, ZHANG Quan-long, ZHOU Jun, JIA Zheng-ping

(Department of Pharmacy, Lanzhou General Hospital of PLA; Key Laboratory of the Prevention and Cure for the Plateau Environment Damage, PLA, Lanzhou 730050, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the quality standard of iridoid glycosides capsule of *Lamiophlomis rotata* (IGC). **Method:** The iridoid glycosides capsule of *L. rotata* was identified by TLC. The contents of total iridoid glycosides, shanzhiside methyl ester and 8-*O*-acetylshanzhiside methyl ester in the capsule were determined by the first derivating UV-spectra and HPLC. **Result:** The identify spots were clear in TLC, and the constituents were well separated under the chromatographic condition. The contents of total iridoid glycosides of three batch capsule were more than 50%, the shanzhiside methyl ester and 8-*O*-acetylshanzhiside methyl ester were separated with other composition and the content were 73.96, 72.43 mg·g⁻¹ respectively. **Conclusion:** The method can be used to control the quality of IGC.

[Key words] *Lamiophlomis rotata*; iridoid glycosides capsule; quality standard

以独一味水提取物为主要原料的独一味口服制剂具有活血止痛、化瘀止血之功效, 临床广泛用于治疗各种创伤、疼痛、出血^[1]。独一味环烯醚萜苷类成分是其止血镇痛有效成分^[2-3, 11], 并以此为主要成分研制了独一味环烯醚萜苷胶囊。本文根据新药研

究办法^[4-5], 对该制剂中的水分、砷盐、重金属等进行检查, 并对主要成分进行定性、定量研究, 为制定合乎规范的质量标准提供依据。

1 材料

BP210S 型电子天平 (Sartorius AG, 德国), HP8453 型二级管阵列紫外-可见分光光度计 (美国惠普公司), H·HS 型电热恒温水浴锅 (红旗医疗器械厂), 高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司), SK7200H 型超声波清洗器 (上海科导仪器有限公司), 101A-A 型鼓风干燥箱 (上海), RJM-2.8-10A 型马福炉 (沈阳), 硅胶 G 板 (10 cm × 10 cm, 青岛市亿达硅胶试剂厂), 柱色谱用聚酰胺 (14 ~ 30 目, 国药集团化学试剂有限公司), 芦丁对照品 (批号

[收稿日期] 20130726(020)

[基金项目] 甘肃省科技重大专项 (1102FKDA012)

[第一作者] 尉丽力, 硕士研究生, 从事药物分析及药理研究, Tel: 0931-8994676, E-mail: leolili126@126.com.cn

[通讯作者] * 李茂星, 副主任药师, 硕士生导师, 从事中药新药研究与开发, Tel: 0931-8994676, E-mail: limaox2005@yahoo.com.cn

0080-9705, 中国药品生物制品检定所), 山梔子苷甲酯和 8-*O*-乙酰山梔子苷甲酯对照品(自制, 从独一味环烯醚萜苷中分离纯化并鉴定结构, HPLC 归一化法测定含量为 97.5%), 环烯醚萜苷胶囊(IGC, 自制, 批号 090910, 090919, 090925, 由兰州军区兰州总医院自制); 乙腈为色谱纯(Honeywell International Inc. USA), 水为注射用水, 其他试剂

均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 制备工艺 采用外加具有抗黏结的助流剂微粉硅胶作为制备胶囊的辅料。通过堆密度、休止角和装量差异筛选最佳处方。结果表明, 采用外加 0.3% 独一味环烯醚萜苷细粉处方量的微粉硅胶、混匀, 可满足生产需要(见表 1)。

表 1 处方筛选

处方号	独一味环烯醚萜苷 细粉用量/g	微粉硅胶辅料 用量/g	堆密度 /g·mL ⁻¹	休止角	装量差异/%	外观性状
1	10	0.031 6	0.718 0	43.6°	3	蓬松、流动好
2	10	0.010 7	0.671 9	45.9°	6	比细粉略有改善

2.2 性状 本品内容物为棕色粉末, 味微苦。

2.3 检查

2.3.1 水分 依法进行检查, 3 批独一味环烯醚萜苷胶囊内容物水分为 5.44%, 2.71%, 2.61%, 均小于 9%, 符合《中国药典》相关规定。

2.3.2 砷盐 依法检查, 精密量取标准砷溶液 2 mL。供试品砷斑均比标准砷斑所显颜色浅, 砷盐检查结果在 2 ppm 以下, 因此正文中不必列入该项检查项目^[3]。

2.3.3 重金属 依法检查。结果表明, 供试品溶液管中所显的颜色均比标准管所显颜色浅。重金属检查结果在 10 ppm, 因此正文中不必列入该项检查项目^[3]。

2.3.4 总灰分和酸不溶性灰分 依法检查。结果, 3 批供试品中总灰分含量分别为 4.18%, 2.13%, 2.05%。酸不溶性灰分的含量分别为 0.40%, 0.35%, 0.36%。

2.3.5 装量差异 依法检查, 取胶囊 10 粒, 精密称定质量, 结果应符合《中国药典》有关规定。

2.3.6 崩解时限 依法检查, 取供试品 6 粒, 结果符合规定。

2.4 薄层色谱鉴别 取本品 0.5 g, 加乙醇 5 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液作为供试品溶液。另取独一味对照药材粉末 1 g, 加水 20 mL, 加热回流 30 min, 滤过, 滤液作为对照药材溶液。另取山梔子苷甲酯和 8-*O*-乙酰山梔子苷甲酯, 加乙醇制成每 1 mL 各含 0.5 mg 的混合溶液, 作为对照品溶液。取微粉硅胶适量同法制备阴性对照溶液。照薄层色谱法试验, 吸取上述溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板(不活化)上, 以三氯甲烷-甲醇(4:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 在

105 $^{\circ}$ C 加热至斑点清晰。供试品色谱中, 在与对照品及对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。阴性无干扰。

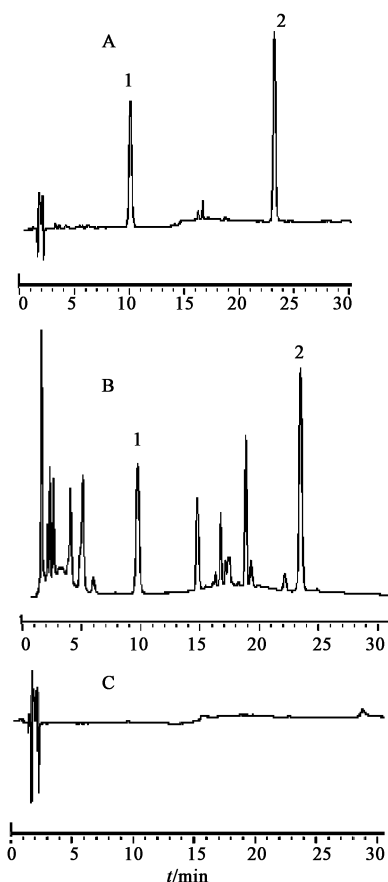
2.5 含量测定

2.5.1 总环烯醚萜苷 参照课题组前期研究^[6], 精密称取干燥至恒重的山梔子苷甲酯、8-*O*-乙酰山梔子苷甲酯对照品适量, 配成每 1 mL 各含 90 μ g 的混合溶液, 作为总浓度为 180 mg·L⁻¹ 的混合对照品母液。再用纯化水稀释定容, 采用一阶导数法于 252 nm 测定吸光度 *A*, 以吸光度为横坐标对质量浓度做回归方程, 得 $Y = -0.000 9A + 0.000 6$ ($R^2 = 0.999 9, n = 6$), 混合标准品浓度在 18 ~ 108 mg·L⁻¹ 与峰面积呈良好线性关系。精密度试验、重复性试验其 RSD 均 < 2%, 精密度良好、重复性良好。加样回收率试验, 平均回收率为 103.60%, 其 RSD < 1%。

供试品溶液制备: 精密称取独一味环烯醚萜苷胶囊细粉 0.02 g, 分别置于 25 mL 量瓶中, 加纯化水定容, 放置使溶解。取上清液稀释 10 倍, 即得。由回归方程求得样品浓度, 计算 3 批样品中总环烯醚萜苷的百分含量, 结果见表 2。

2.5.2 山梔子苷甲酯和 8-*O*-乙酰山梔子苷甲酯的含量测定^[4,7] 色谱条件与系统适用性试验 Symmetry C₁₈ 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m, Waters), 流动相乙腈-水 [0 ~ 11 min, (9:91), 11 ~ 28 min, (15:85)], 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 235 nm, 柱温 20 $^{\circ}$ C, 进样量 10 μ L。在此色谱条件下, 样品中山梔子苷甲酯、8-*O*-乙酰山梔子苷甲酯峰形较好, 与其他组分色谱峰可达基线分离, 见图 1。理论板数按山梔子苷甲酯计算不低于 3 000。

对照品溶液的制备 精密称取山梔子苷甲酯和 8-*O*-乙酰山梔子苷甲酯对照品适量, 分别置 50 mL



A. 混合对照品;B. 供试品;C. 阴性对照;
1. 山栀子苷甲酯;2. 8-O-乙酰山栀子苷甲酯

图1 独一味环烯醚萜苷胶囊 HPLC 色谱图

量瓶中,加 70% 甲醇溶液溶解并定容,备用。分别精密吸取上述对照品溶液适量,混合并稀释,使此溶液含山栀子苷甲酯 $76.8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,8-O-乙酰山栀子苷甲酯 $67.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

供试品溶液的制备 取本品 0.02 g,精密称定,置 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 70% 甲醇溶液 25 mL,精密称定,超声提取 30 min,放冷,用 70% 甲醇溶液补足质量,精密称定,摇匀,0.45 μm 滤过,即得。

阴性对照溶液的制备 按处方比例及生产制备方法制备阴性样品。

测定法 分别精密吸取阴性对照溶液、对照品溶液与供试品溶液各 10 μL ,注入液相色谱仪,按上述色谱条件进行测定,即得。结果见表 2。

加样回收率考察,实验表明山栀子苷甲酯、8-O-乙酰山栀子苷甲酯回收率良好,见表 3。精密度、重复性、稳定性实验均良好,其 $\text{RSD} < 2.30\%$ 。

3 讨论

独一味环烯醚萜苷胶囊是以传统藏药独一味的止血镇痛有效成分开发研制的新制剂,其止血镇痛作用更强,毒副作用更低,具有良好的市场前景。

独一味环烯醚萜苷原料药的黏性、吸湿性较大,制备颗粒较困难,而且制粒后需要进一步干燥,影响成分的稳定性,所以采用外加助流剂的方法。

表 2 山栀子苷甲酯和 8-O-乙酰山栀子苷甲酯含量测定 ($n = 3$)

批号	总环烯醚萜苷 /%	RSD/%	山栀子苷甲酯 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD/%	8-O-乙酰山栀子苷甲酯 / $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	RSD/%
090910	51.95	1.02	75.07	2.06	70.81	1.32
090919	55.95	1.06	75.77	0.50	74.81	1.25
090925	55.15	1.70	71.04	1.71	71.68	1.21
平均	54.35	3.89	73.96	3.45	72.43	2.90

表 3 山栀子苷甲酯和 8-O-乙酰山栀子苷甲酯加样回收率

成分	样品含量 / mg	加入量 / mg	测得量 / mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
山栀子苷甲酯	0.996 5	1.000 0	1.943 6	94.71	94.74	2.04
	0.990 7	1.000 0	1.943 2	95.26		
	0.930 1	1.000 0	1.887 9	95.78		
	0.977 0	1.000 0	1.912 4	93.54		
	1.039 5	1.000 0	2.026 8	98.73		
	0.928 2	1.000 0	1.862 8	93.46		

续表 3

成分	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
8-O-乙酰山梔苷甲酯	1.244 4	1.120 0	2.379 5	101.34	100.59	1.61
	1.237 1	1.120 0	2.353 8	99.70		
	1.161 4	1.120 0	2.274 6	99.39		
	1.220 0	1.120 0	2.337 4	99.76		
	1.298 1	1.120 0	2.458 3	103.59		
	1.159 0	1.120 0	2.276 1	99.74		

8-O-乙酰山梔苷甲酯与山梔苷甲酯含量被 2010 年版《中国药典》收载为独一味原药材和相关制剂的质量标准,有关此方面的研究课题组前期已有大量研究^[6-8]。本文采用薄层色谱、一阶导数分光光度法以及 HPLC 对环烯醚萜苷类成分进行了详细分析。最终独一味环烯醚萜苷胶囊薄层色谱鉴别应显示样品与对照品及对照药材在相同位置显相同颜色的斑点。一阶导数分光光度法测定样品中总环烯醚萜苷的含量不低于 50%,HPLC 测定样品中 8-O-乙酰山梔苷甲酯与山梔苷甲酯的含量,其平均含量不低于 50 mg·g⁻¹。同时水分、砷盐、重金属应符合药典规定。

该方法简便、可靠、准确,可有效控制本品的质量。

[参考文献]

[1] 乔卫,张彦文.天然环烯醚萜类化合物的生物活性[M].国外医药·植物药分册,2001,16,65.
[2] Li M X, Zhang R X, Jia Z P, et al. Isolation and identification of hemostatic ingredients from *Lamiophlomis rotata* (Benth.) Kudo [J]. Phytotherapy

Res, 2009(23):816.

[3] 张泉龙,邱建国,李茂星,等.独一味环烯醚萜苷外用止血作用研究[J].医药导报,2011,30(7):877.
[4] 谢秀琼.中药新制剂开发与应用[M].北京:人民卫生出版社,2000:273.
[5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典.一部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:939,附录 10,附录 50,附录 62.
[6] 李茂星,贾正平,胡之德,等.藏药独一味中总环烯醚萜苷的含量测定[J].华西药学杂志,2007,22(2):208.
[7] 李茂星,李文斌,樊鹏程,等.独一味制剂中 8-乙酰氧基山梔苷甲酯的含量测定[J].中国医院药学杂志,2009,29(8):688.
[8] 尉丽力,李茂星,樊鹏程,等.独一味药材中环烯醚萜苷类成分指纹图谱研究[J].中药新药与临床药理,2012,21(4):403.
[9] 朱斌,龚念,彭崇胜,等.独一味镇痛作用及其有效成分研究[J].中国药理学与毒理学杂志,2012,26(3):422.

[责任编辑 顾雪竹]