

止血镇痛散的制备及其质量标准

邱建国,张泉龙,尉丽力,李茂星,贾正平*,张汝学,周琚,邱宜农
(兰州军区兰州总医院药材科,全军高原环境损伤防治重点实验室,兰州 730050)

〔摘要〕 目的:制备止血镇痛散并建立其质量控制方法。方法:独一味水提物经聚酰胺柱去除总黄酮,大孔树脂富集得总环烯醚萜苷,以环烯醚萜苷为原料制备独一味止血镇痛散。以 8-O-乙酰山栀子苷甲酯为对照品进行薄层色谱定性鉴别;总环烯醚萜苷含量测定采用一阶导数紫外分光光度法;HPLC 测定山栀子苷甲酯和 8-O-乙酰山栀子苷甲酯的含量。结果:TLC 可较好地鉴别 8-O-乙酰山栀子苷甲酯,阴性对照显示无干扰;建立的总环烯醚萜苷含量测定方法,平均加样回收率 104.40%,RSD 0.64%;建立的山栀子苷甲酯和 8-O-乙酰山栀子苷甲酯的含量测定方法,平均加样回收率分别为 94.74%,100.59%,RSD 分别为 2.27%,1.61%。结论:止血镇痛散的制备工艺可推广于工业化生产中使用;建立的质控方法准确、可靠,可有效评价止血镇痛散的质量。

〔关键词〕 独一味环烯醚萜苷;止血镇痛散;制备工艺;质量标准

〔中图分类号〕 R283.6 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2012)21-0015-05

Preparation and Quality Standard of Zhixue Zhentong Powder

QIU Jian-guo, ZHANG Quan-long, WEI Li-li, LI Mao-xing, JIA Zheng-ping*,
ZHANG Ru-xue, ZHOU Jun, QIU Yi-nong
(Department of Pharmacy, Lanzhou General Hospital of The Chinese People's Liberation Army;
Key Laboratory of Prevention and Cure for Plateau Environment Damage, Lanzhou 730050, China)

〔Abstract〕 **Objective:** To prepare Zhixue Zhentong powder, and establish its quality standard to control its therapeutic efficacy. **Method:** Total flavonoids from water extract of *Lamiophlomis rotata* was removed by polyamide column, total iridoid glycoside was enriched by macroporous resin, Zhixue Zhentong powder was prepared with iridoid glycoside as raw material. TLC qualitative identification was adopted with 8-O-acetylshanzhiside methylester as reference substance; The content of total iridoid glycosides was determined by first derivative ultraviolet spectrophotometry; the content of shanzhiside methylester and 8-O-acetylshanzhiside methylester were determined by HPLC. **Result:** TLC spots of shanzhiside methylester and 8-O-acetylshanzhiside methylester were all clear. Total iridoid glycosides determination for this preparation was established, average recovery of this method was 104.40%, RSD 0.64%. HPLCfor determination of shanzhiside methylester and 8-O-acetylshanzhiside methylester in this preparation was established, average recoveries were 94.74%, 100.59%, RSD were 2.27%, 1.61%, respectively. **Conclusion:** Optimized preparation technology of Zhixue Zhentong powder could be extended for use in industrial production; This established quality control method was accurate and reliable, it could evaluate quality of Zhixue Zhentong powder effectively.

〔Key words〕 iridoid glycosides from *Lamiophlomis rotata*; Zhixue Zhentong powder; preparation technology; quality standard

〔收稿日期〕 20120512(008)
〔基金项目〕 甘肃省科技重大专项(1102FKDA012);全军中医药研发推广项目(2006032001)
〔第一作者〕 邱建国,副主任药师,从事高原植物药和新药的研究,Tel:0931-8994676,E-mail:qjianguo@163.com
〔通讯作者〕 *贾正平,主任药师,教授,博士生导师,从事医院药学专业的研究,Tel:0931-8994652,E-mail:jiazp166@sina.com

独一味是藏、蒙、纳西等民族的民间草药,具有活血止痛、化瘀止血、增强免疫力等功效,临床用于刀口疼痛、出血、牙龈肿痛等症,疗效显著^[1-2]。近年来,本课题组对独一味成分、药效、毒理及其制剂进行了系统研究,通过药理试验筛选,确定总环烯醚萜苷是独一味的止血、镇痛活性部位,并应用现代天然药物化学分离方法,创造性地采用大孔吸附树脂结合聚酰胺柱分离、纯化独一味中总黄酮、总环烯醚萜苷及大极性成分,相关工艺流程已获国家发明专利^[3];同时本课题组参与了《中国药典》2010 年版一部中独一味药材及制剂含量测定项的修订。本试验以总环烯醚萜苷为主要成分,开发了具有止血镇痛作用的外用制剂——独一味止血镇痛散,并制定其质量标准,以实现藏药独一味的二次开发。

1 材料

高效液相色谱仪(美国 Waters 公司,包括 600 型二元梯度泵,996 型二极管阵列紫外检测器),HP 8453 型二极管阵列紫外-可见分光光度计(美国惠普公司),BP210S 型电子天平(德国 Sartorius AG),Transformer B-5 型紫外线检出器(日本 Shimadzu),聚酰胺(14~30 目,上海化学试剂站分装厂),XDA-1 型大孔树脂(西安蓝晓科技有限公司),硅胶 G 板(青岛市基亿达硅胶试剂厂)。

表 1 止血镇痛散处方优选试验

No.	环烯醚萜苷 细粉/g	辅料及 用量/g	临界相对 湿度/%	休止角 /	装量差异 /%	外观性状
1	10	外加微粉硅胶 0.031 6	68	43.6	3	蓬松、流动性好
2	10	内加微粉硅胶 0.010 7	68	45.9	6	比细粉略有改善
3	10	外加滑石粉 0.030 8	72	45.5	5.6	比细粉略有改善

注:辅料均过 80 目筛。

2.1.3 样品制备 根据优选的工艺结果,称取独一味总环烯醚萜苷超微细粉适量,外加 0.3% 微粉硅胶,混匀,分装,即得(批号分别为 100101,100202,100303)。

2.2 薄层色谱鉴别^[1] 称取 3 批独一味水提物及止血镇痛散粉末各 1 g,加乙醇 10 mL,加热回流 15 min,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。取独一味药材适量,粉碎,称取 1 g,加乙醇 10 mL,加热回流 15 min,滤过,滤液作为药材溶液。另取山栀子苷甲酯和 8-O-乙酰山栀子苷甲酯对照品各 0.01 g,加乙醇 10 mL 溶解,所得混合溶液作为对照品溶液。吸取上述溶液各 10 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-甲醇(4:1)为展开剂,展开,取出,晾干,

8-O-乙酰山栀子苷甲酯、山栀子苷甲酯的对照品(本实验室自制,HPLC 归一化法测定,纯度分别为 97.5%,98.5%),磷钼酸(北京化工厂),水为纯化水,乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯,独一味药材购自甘肃省玛曲县黄河首曲药源开发有限公司,经兰州军区兰州总医院药材科李茂星博士鉴定为 *Lamiophlomis rotata* (Benth) Kudo 的根及全草。独一味水提物购自甘肃省玛曲县黄河首曲药源开发有限公司,批号分别为 20090901,20090902,20090903。

2 方法与结果

2.1 止血镇痛散的制备

2.1.1 总环烯醚萜苷的提取^[4] 分别称取 3 批独一味水提物,每批 20 kg,溶于 200 L 水中,上聚酰胺柱(10~30 目,40 kg)以去除总黄酮,流出液通过 XDA-1 型大孔吸附树脂柱(100 kg),水冲洗至流出液呈无色,用 70% 乙醇洗脱大孔吸附树脂柱,收集洗脱液,60 ℃ 减压干燥,得独一味总环烯醚萜苷成分,超微粉碎,备用。

2.1.2 止血镇痛散制备工艺考察 称取独一味总环烯醚萜苷超微细粉适量,共 3 份,分别内加 0.3% 微粉硅胶,外加 0.3% 微粉硅胶、外加 0.3% 滑石粉,混匀,考察休止角、临界相对湿度,结果见表 1。

喷以磷钼酸溶液,于 105 ℃ 加热至斑点显色清晰。见图 1。

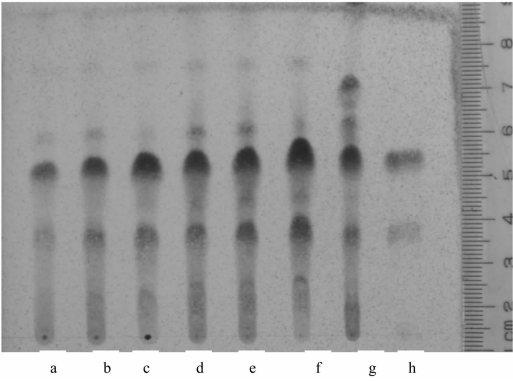
2.3 含量测定

2.3.1 总环烯醚萜苷含量测定^[5]

2.3.1.1 对照品溶液的制备 精密称定从独一味中分离得到的 8-O-乙酰山栀子苷甲酯对照品 21.6 mg,置于 100 mL 量瓶中,加水定容,得 216.0 mg·L⁻¹对照品溶液。

2.3.1.2 供试品溶液的制备 分别称取独一味水提物和止血镇痛散 0.010 g,精密称定,置 100 mL 量瓶中,加水定容,即得。

2.3.1.3 标准曲线的制备 取对照品溶液 0.5,1.0,1.5,2.0,2.5,3.0,3.5 mL,分别置于 10 mL 量



a ~ c. 3 批独一味水提物;d ~ f. 3 批止血镇痛散;
g. 对照药材;h. 对照品溶液

图 1 独一味水提物及其制剂薄层色谱

瓶中,加水定容,采用一阶导数于 252 nm 测定吸光度(A),得回归方程 $A = -0.001C + 0.0002$ ($r = 0.9995$),对照品溶液在 $10.8 \sim 75.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 线性关系良好。

2.3.1.4 样品测定 在 252 nm 测定一阶导数 A ,由回归方程求供试品溶液质量浓度,计算供试品中总环烯醚萜苷的含量,结果 3 批(批号分别为 090101,090202,090303)水提物中总环烯醚萜苷质量分数分别为 16.55%,15.16%,16.73%;3 批(批号分别为 100101,100202,100303)止血镇痛散中则分别为 54.16%,58.30%,57.95%。

2.3.2 8-*O*-乙酰山栀子苷甲酯和山栀子苷甲酯含量测定

2.3.2.1 色谱条件与系统适应性试验 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,流动相 9% 乙腈溶液(A)-15% 乙腈溶液(B)进行梯度洗脱(0 ~ 7 min,100% A;7 ~ 28 min,0% A;28 ~ 31 min,100% A),流速 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,检测波长 235 nm,理论板数按山栀子苷甲酯峰计算不低于 3 000。

2.3.2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取山栀子苷甲酯和 8-*O*-乙酰山栀子苷甲酯各 0.001 g,用 70% 甲醇溶液定容至 25 mL,制得 $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 混合对照品溶液。

2.3.2.3 供试品溶液的制备 分别称取独一味水提物 0.1 g,精密称定,称取 9 份,分 3 组,每组 3 份,分置具塞锥形瓶中,精密加入 70% 甲醇 25 mL,密塞,称定质量;第 1 组回流提取 1 h,第 2 组超声提取 30 min,第 3 组振摇提取 30 min,再称定质量,用 70% 甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,进样,测定。结果见表 2。

表 2 供试品溶液的制备优选

No.	提取方法	山栀子苷甲酯 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	8- <i>O</i> -乙酰山栀子 苷甲酯/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
1	回流 1	12.79	42.69
2	回流 2	15.21	50.04
3	回流 3	13.57	47.64
4	超声 1	13.87	45.49
5	超声 2	14.28	48.18
6	超声 3	13.95	50.55
7	振摇 1	13.39	48.03
8	振摇 2	14.10	47.59
9	振摇 3	13.75	43.72

由表 2 结果可知,超声提取时,山栀子苷甲酯和 8-*O*-乙酰山栀子苷甲酯的含量最高,提取误差最小,故选择采用超声提取制备供试品溶液。

2.3.2.4 测定 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL ,注入液相色谱仪,按外标一点法计算。

2.3.2.5 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液(山栀子苷甲酯 $60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,8-*O*-乙酰山栀子苷甲酯 $67.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)10 μL ,重复进样 6 次,结果山栀子苷甲酯和 8-*O*-乙酰山栀子苷甲酯 RSD 分别为 1.01%,1.98%。

2.3.2.6 重复性试验 取同一供试品 6 份,按供试品溶液制备方法配制,进样,结果山栀子苷甲酯和 8-*O*-乙酰山栀子苷甲酯 RSD 分别为 2.12%,3.48%,表明方法重复性良好。

2.3.2.7 稳定性试验 对照品溶液放置室温,在同 1 d 内每隔 2 h 测定,连续考察 8 h,结果山栀子苷甲酯和 8-*O*-乙酰山栀子苷甲酯 RSD 分别为 1.55%,1.63%,说明对照品溶液在 8 h 内稳定。

2.3.2.8 加样回收率试验 取同一浓度的供试品 6 份,精密加入一定量已知浓度的被测成分对照品,依法测定。结果见表 3。结果山栀子苷甲酯和 8-*O*-乙酰山栀子苷甲酯平均回收率分别为 94.74%,100.59%,RSD 分别为 2.27%,1.61%。说明该方法稳定可行。

2.3.2.9 样品测定 根据优选的提取方法制备独一味水提物和止血镇痛散供试品溶液,分别进样 10 μL ,测定峰面积,由外标一点法计算供试品质量浓度,结果 3 批(批号分别为 090101,090202,090303)水提物中山栀子苷甲酯含量分别为 18.19,19.18,19.13 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$;8-*O*-乙酰山栀子苷甲酯分别为

表 3 止血镇痛散加样回收率试验

成分	供试品中 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	1.943 6	94.71	94.74	2.27
	0.990 7	1.000	1.943 2	95.26		
	0.930 1	1.000	1.857 9	92.78		
	0.977 0	1.000	1.912 4	93.54		
	1.039 5	1.000	2.026 8	98.73		
	0.928 2	1.000	1.862 8	93.46		
8-O-乙酰山	1.244 4	1.120	2.379 5	101.34	100.59	1.61
栀子苷甲酯	1.237 1	1.120	2.353 8	99.70		
	1.161 4	1.120	2.274 6	99.39		
	1.220 0	1.120	2.337 4	99.76		
	1.298 1	1.120	2.458 3	103.59		
	1.159 0	1.120	2.276 1	99.74		

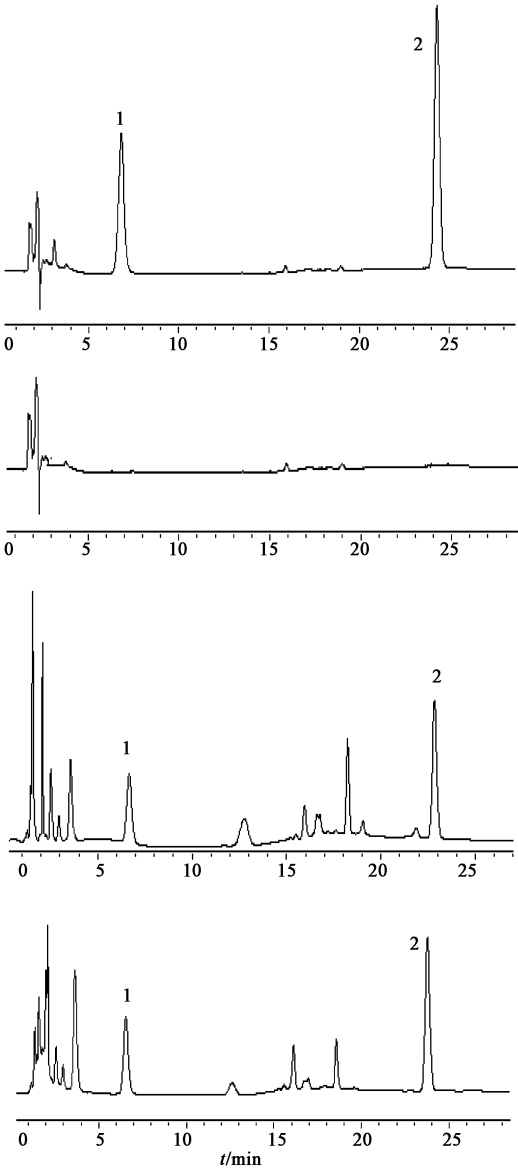
19.38,21.39,20.46 mg·g⁻¹。3 批(批号分别为 100101,100202,100303)止血镇痛散中山栀子苷甲酯含量分别为 80.62,74.76,77.90 mg·g⁻¹;8-O-乙酰山栀子苷甲酯分别为 91.04,71.04,72.50 mg·g⁻¹。色谱图见图 3。

3 讨论

通过 TLC 试验,用磷钼酸溶液显色、水提取物及止血镇痛散中环烯醚萜苷类成分与对照药材和对照品在相同 Rf 位置上显相同的蓝色斑点。对照药材与水提取物在紫外灯下还出现黄色荧光斑点(成分为黄酮类化合物),而止血镇痛散中由于去除了黄酮类成分,因此未出现荧光斑点。

解军波等^[6]采用 LC-MS-MS 测定木犀草素含量,桑育黎等^[7]采用 HPLC 测定独一味软胶囊中 8-epideoxyloganic acid 含量;何希瑞等^[8]采用 HPLC 测定独一味颗粒剂、胶囊剂、片剂等制剂中的山栀子甲酯含量;本课题组采用 HPLC 梯度洗脱方式同时测定山栀子甲酯和 8-O-乙酰山栀子甲酯的含量,在含量测定研究中,对供试品溶液的制备方法进行了筛选,比较了回流提取、超声提取和振荡提取 3 种方法。

一阶导数紫外分光光度法测定总环烯醚萜苷含量试验结果显示,总环烯醚萜苷含量由水提取物中的 16.15%,提高到止血镇痛散 56.80%;通过 HPLC 测定,山栀子苷甲酯和 8-O-乙酰山栀子苷甲酯的含量分别由水提取物中的 18.83,20.14 mg·g⁻¹提高到止血镇痛散的 77.76,78.19 mg·g⁻¹。通过止血镇痛散和水提取物中含量比较,此方法可有效地富集总环烯醚



1. 对照品;2. 阴性对照溶液;3. 样品;4. 水提取物;
A. 山栀子苷甲酯;B. 8-O-乙酰山栀子苷甲酯

图 3 止血镇痛散 HPLC

萜苷成分,提高总环烯醚萜苷成分。综上所述,以独一味水提取物为原料,经聚酰胺去除黄酮类成分,大孔树脂富集总环烯醚萜苷,减压干燥,超微粉碎制备的止血镇痛散,具有止血镇痛疗效强、使用剂量小、安全性高的特点。

[参考文献]

[1] 中国药典.一部[S]. 2005:附录 IX H.
[2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 第 7 卷[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:6074.
[3] 贾正平,李茂星,张汝学. 从藏药独一味中提取环烯醚萜苷的方法及用途:中国, CN200410011679.0[P]. 2007-06-06.

不同泽兰提取液的成膜材料筛选

魏刚^{1*}, 许日鑫¹, 何坦², 林华燕¹, 林微微¹, 石添香¹, 欧斯健¹, 刘东辉¹
(1. 广州中医药大学, 广州 510405; 2. 广州中一药业有限公司, 广州 510130)

〔摘要〕 目的:考察主要成膜材料在泽兰水提液和乙醇提取液中的成膜性能,为含泽兰的中药喷膜剂成膜材料的选择与应用提供参考。方法:根据成膜材料的溶解性,选择聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、聚乙烯醇(PVA)、乙基纤维素(EC)、甲基纤维素(MC)等成膜材料,通过显微镜和图像拍摄软件对膜结构拍照分析,考察各成膜材料在泽兰水提液和不同体积分数乙醇提取液中成膜性能。结果:PVP-K30,PVP-K90 在泽兰水提液及乙醇提取液中均具有良好的成膜性,且膜的质地细密、光滑、平整。PVA-1788 在泽兰水提液及乙醇提取液中均能成膜,但膜表面凹凸不平、较粗糙,且有少量颗粒分散在膜表面;EC 在泽兰无水乙醇提取液中成膜性能优良,能形成一层厚实、平整、致密的膜,但 EC-6-9,EC-9-11 在泽兰 80% 乙醇提取液中成膜性较差,其膜结构较不明显;MC 在泽兰提取液中成膜性随提取液乙醇体积分数升高而降低。结论:成膜材料的选择与泽兰提取液溶媒极性有关,PVP-K30 是含泽兰的中药喷膜剂、膜剂等成膜材料的最优选择。

〔关键词〕 泽兰; 提取液; 成膜材料; 膜剂; 喷雾剂
〔中图分类号〕 R283.6 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2012)21-0019-06

Screening of Film Forming Material for Different Extraction
Liquid of *Lycopus lucidus*

WEI Gang^{1*}, XU Ri-xin¹, HE Tan², LIN Hua-yan¹, LIN Wei-wei¹,
SHI Tian-xiang¹, OU Si-jian¹, LIU Dong-hui¹
(1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China;
2. Guangzhou Zhongyi Pharmaceutical Co. Ltd, Guangzhou 510130, China)

〔Abstract〕 Objective: To investigate film-forming property of main film-forming materials in water and ethanol extraction liquid of *Lycopus lucidus*, and to provide a reference for selection and application of film-forming materials from Chinese medicine spray including *L. lucidus*. Method: According to solubility of film-forming materials, polyvinyl pyrrolidone (PVP), polyvinyl alcohol (PVA), ethyl cellulose (EC) and methyl cellulose (MC) were used to investigate property of film-forming materials in different extraction solution of *L. lucidus* by

〔收稿日期〕 20120611(010)
〔基金项目〕 国家科技部“十一五”科技支撑计划项目(2008BAI53B074);广东省教育部产学研结合项目(2011B090400319);广东高校科技成果转化重大项目(cgzhzd1009)
〔通讯作者〕 * 魏刚,研究员,硕士生导师,从事中药新药研究与指纹图谱分析,Tel:020-39358519,E-mail:weigang021@163.com

[4] 邱建国,张泉龙,尉丽力,等. 工业化提取分离纯化独一味总环烯醚萜苷类成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011,13(17):32.

[5] 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.

[6] 解军波,张彦青,吴国娇,等. LC-MS-MS 法测定独一味中木犀草素[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(7):64.

[7] 桑育黎,郝延军,陈沉,等. HPLC 测定独一味软胶囊中 8-epideoxyloganic acid 的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(13):107.

[8] 何希瑞,李茂星,樊鹏程,等. HPLC 法测定独一味制剂中山梔苷甲酯[J]. 中国实验方剂学杂志,2010, 16(7):50.

〔责任编辑 仝燕〕