

鞣花酸片剂的制备及其含量测定

张华, 裴桂珍, 李桂华, 孙丽, 陈文*
(石河子大学药学院, 新疆 石河子 832002)

[摘要] **目的:** 制备鞣花酸片剂, 建立片剂中鞣花酸的含量测定方法。**方法:** 以片剂的外观、硬度、脆碎度、崩解时间为指标, 通过正交试验优选鞣花酸片剂处方; 采用高效液相色谱法进行含量测定, 流动相乙腈-0.1% 磷酸水溶液 (23:77), 流速 0.8 mL·min⁻¹, 检测波长 254 nm。**结果:** 鞣花酸片剂辅料最佳配比为淀粉-乳糖-羟甲淀粉钠-硬脂酸镁 (4:9:0.5:0.2); 鞣花酸片剂在 10.21 ~ 102.10 mg·L⁻¹ 线性关系良好, 回归方程 $Y = 28\ 010X - 92\ 942$ ($r = 0.999\ 9$), 其加样回收率为 98.12%, RSD 1.28%。**结论:** 该测定方法准确, 方便, 可靠, 可用于鞣花酸片剂中鞣花酸的含量测定。

[关键词] 鞣花酸; 正交设计; 片剂; HPLC

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)13-0039-04

Preparation and Content Determination of Ellagic Acid Tablet

ZHANG Hua, PEI Gui-zhen, LI Gui-hua, SUN Li, CHEN Wen*
(College of Pharmacy, Shihezi University, Shihezi 832002, China)

[Abstract] **Objective:** To prepare ellagic acid tablet, and to establish determination method for ellagic acid. **Method:** With appearance, hardness, friability and disintegration time of the tablet as indexes,

[收稿日期] 20120306(008)

[基金项目] 兵团医药专项课题(2011BA056)

[第一作者] 张华, 硕士, 讲师, 从事药物新剂型的研究, Tel:0993-2055002, E-mail:zh_pha@shzu.edu.cn

[通讯作者] * 陈文, 教授, 从事药物新剂型的研究, E-mail:chen-wen 2000@126.com

分提取率偏低的重要原因之一。

由药料的前处理研究数据可知, 蒲公英各规格药材提取率均在 85% 以上, 前处理对其影响较小; 黄芩、虎杖、赤芍原药材投料提取率明显偏低, 结果提示, 成分在溶剂中的溶解度较小或质地坚硬的中药需切片或粉碎处理。由加热过程对提取工艺时的影响试验结果可知, 在中药提取过程中应关注苷类成分的酶解, 如黄芩苷, 采用沸水投料可起到杀酶保苷的作用, 提高黄芩苷的提取率^[6]。同时, 有些成分在冷水中溶解性差而易溶于热水中, 此时工艺研究应注重提取温度的考察。

在中药制剂提取工艺研究中应注重药料的前处理研究, 特别是材质较为致密的中药。同时, 由于中药的复杂性, 在中药复方制剂中, 成分繁多, 性质各异, 提取工艺的考察应综合各类成分的性质, 选择多指标测定进行工艺控制。

[参考文献]

- [1] 周杰, 荣向路. 众生丸抗病原微生物及解热作用的研究[J]. 中药材, 2002, 25(10):732.
- [2] 季巧遇, 李谄光, 刘旭海, 等. 正交试验优选健胃消食口崩片提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(24):12.
- [3] 刘丽花, 陈天朝, 翟来超. 均匀设计优选黄连紫草膏中黄连黄柏当归水提工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(4):33.
- [4] 中国药典. 一部[S]. 2005:109, 145, 211, 244.
- [5] 陈瑞云, 温勇, 王德杭, 等. HPLC 测定众生丸中三种苷类成分的含量[J]. 中药新药与临床药理, 2010, 21(2):194.
- [6] 李贵波, 王欣欣, 刘秀华, 等. 正交试验法优选黄芩炮制工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(6):36.

[责任编辑 仝燕]

prescription of ellagic acid tablet was optimized by orthogonal test; HPLC was adopted for determination of the content of ellagic acid, mobile phase of acetonitrile-0.1% phosphoric acid 23:77, flow rate of 0.8 mL·min⁻¹, detection wavelength of 254 nm. **Result:** The best ratio of excipients from ellagic acid tablet was starch-lactose-hydroxymethyl starch sodium-magnesium stearate 4:9:0.5:0.2; There was a good linear relationship for ellagic acid tablet within the concentration of 10.21-102.10 mg·L⁻¹, regression equation was $Y = 28\ 010X - 92\ 942$ ($r = 0.999\ 9$), average recovery rate was 98.12%, RSD 1.28%. **Conclusion:** This determination method was accurate, convenient, reliable, and it could be used for determination of ellagic acid from ellagic acid tablet.

[**Key words**] ellagic acid; orthogonal design; tablet; HPLC

鞣花酸^[1]是广泛存在于各种坚果、软果(如石榴皮,五倍子等)植物组织中的一种天然多酚二内酯,是没食子酸的二聚衍生物^[2],具有优异的抗突变^[3-4]、抗癌变、抗氧化等功效^[5-7]。随着对鞣花酸的研究深入,发现其对许多肿瘤^[8]均有治疗作用,其中包括白血病、肺癌、肝癌及食管癌等^[9],被认为是最有前景的天然化学抗癌药之一。近年来,国内外对鞣花酸的研究较多,主要包括其提取工艺^[10]及含量测定^[11]考察。有关鞣花酸制剂方面研究较少,国内市面上尚无鞣花酸相关剂型。本试验主要对鞣花酸片剂的制备及其含量测定进行考察,以期为其新药研发提供参考依据。

1 材料

SB-02 型速邦多功能粉碎机(上海市蒲恒信息科技有限公司),DHG-9030A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海齐欣科学仪器有限公司),VFP5 型旋转式变速压片机(常州市龙城光药化机械有限公司),78X-2 型片剂四用测定仪(上海黄海药检仪器厂),SHIMADZU LC-20A 型高效液相色谱仪(日本岛津公司),Sartorius BP211D 型 1/10 万分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),BT2245 型 1/100 万分析天平(北京塞多利斯天平有限公司)。

鞣花酸提取物(自制,含量 40%),乳糖(天津市大茂化学仪器供应站),淀粉(天津市光复科技化工有限公司),羟甲淀粉钠(上海三浦化工有限公司),硬脂酸镁(天津市光复科技化工有限公司),乙腈为色谱纯,水为自制双蒸水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 处方优选

2.1.1 辅料选择 本试验选取淀粉、乳糖、10% 淀粉浆、羟甲淀粉钠(CMS-Na)、硬脂酸镁等为辅料,其中淀粉和乳糖为稀释剂,10% 淀粉浆为粘合剂,羟甲淀粉钠为崩解剂,硬脂酸镁为润滑剂。

2.1.2 评价指标 以片剂的形状、硬度、崩解时间、脆碎度等为参考指标,对湿法制粒压片结果进行评

价,见表 1。

表 1 鞣花酸片剂评价指标

考察项目	指标评价
片剂外观	完整,光洁,色泽均匀 5 分
片剂硬度	4~6 kg 记 5 分
崩解时间	<50 s 为 5 分
脆碎度	<1% 记 5 分

2.1.3 正交试验设计 利用正交试验筛选混合辅料配比,以片剂的外观、硬度、脆碎度、崩解时间为指标,采用 L₉(3⁴) 正交表设计试验,选用淀粉、乳糖、羟甲淀粉钠、硬脂酸镁的用量为因素,每因素选择 3 个水平,片重定为 200 mg/片,主药含量定为 80 mg/片,因素水平表见表 2,正交试验安排及结果见表 3,方差分析见表 4。试验预制空白颗粒 80 g,按正交试验安排进行辅料配比,将不同配比的辅料过筛混合,分别加处方量的淀粉浆制软材并制粒,置 70~80 ℃ 烘箱中干燥,整粒,加羟甲淀粉钠和硬脂酸镁混匀,压片,弃去刚开始的片剂。分别取各处鞣花酸片剂 50 片,置于片剂四用仪中测其崩解时间、硬度、脆碎度等,按评分指标进行评分,

表 2 鞣花酸片剂处方优选正交试验因素水平

水平	A 淀粉/g	B 乳糖/g	C CMS-Na/g	D 硬脂酸镁/g
1	4	9	0.4	0.1
2	5	10	0.5	0.2
3	6	11	0.6	0.3

根据极差 R 大小可知,各因素影响顺序为 A > D > C > B,即淀粉 > 硬脂酸镁 > 羟甲淀粉钠 > 乳糖用量,由直观分析可知最佳辅料配比为 A₁B₁C₂D₂,即淀粉-乳糖-羟甲淀粉钠-硬脂酸镁(4:9:0.5:0.2)。以极差最小的 B 因素为误差项进行方差分析,结果显示 A 因素影响较显著。

2.2 片剂的制备 将鞣花酸提取物、乳糖、淀粉分别过 80 目筛,混合均匀,加适量淀粉浆制软材,于

表3 鞣花酸片剂处方优选正交试验安排

No.	A	B	C	D	综合评分
1	1	1	1	1	16.34
2	1	2	2	2	18.00
3	1	3	3	3	16.11
4	2	1	2	3	15.51
5	2	2	3	1	11.13
6	2	3	1	2	14.46
7	3	1	3	2	10.27
8	3	2	1	3	9.34
9	3	3	2	1	9.01
K_1	16.82	14.04	13.38	12.16	
K_2	13.70	12.82	14.17	14.24	
K_3	9.54	13.19	12.50	13.65	
R	7.28	1.22	1.67	2.08	

表4 处方优选方差分析

因素	SS	f	F	P
A	79.969	2	34.263	<0.05
B(误差)	2.334	2	1.000	
C	4.187	2	1.794	
D	6.918	2	2.964	

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

20目筛下制粒,置70~80℃烘箱中干燥,于14目筛下整粒,加CMS-Na和硬脂酸镁充分混匀后压片,即得。

2.3 质量检查 随机取压好片剂36片,按2010年版《中国药典》规定测定鞣花酸片的硬度、崩解度、脆碎度和片重差异等,结果测得平均崩解时间为50s,平均硬度为4.45kg,片重差异为±4.62%,脆碎度<1%。均符合规定。

2.4 含量测定

2.4.1 对照品溶液的制备 精密称取鞣花酸对照品5.11mg,置于25mL量瓶中,用甲醇溶解并定容,分别精密吸取0.5,1.0,2.0,3.0,4.0,5.0mL置10mL量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.4.2 供试品溶液的制备 精密称取20片鞣花酸片,碾细精密称取适量(相当于与鞣花酸提取物5mg),精密称取0.0384g,用甲醇溶解并定容于25mL量瓶中,摇匀,即得。

2.4.3 空白溶液的制备 取20片空白片,碾细精密称取适量,取适量用甲醇溶解并定容于25mL量瓶中,摇匀,即得。

2.4.4 色谱条件 Agilent TC-C₁₈ 色谱柱(4.6mm×250mm,5μm),流动相乙腈-0.1%磷酸水溶液23:77,检测波长254nm,流速0.8mL·min⁻¹,柱温30℃,进样量10μL。

2.4.5 标准曲线绘制 精密吸取鞣花酸对照品溶液适量,按色谱条件检测,以鞣花酸质量浓度(X)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程 $Y = 28\ 010X - 92\ 942$ ($r = 0.999\ 9$),线性范围10.21~102.10mg·L⁻¹。

2.4.6 精密度试验 将质量浓度为40.8mg·L⁻¹的对照品溶液按上述色谱条件连续进样6次,记录其峰面积,结果RSD 0.38%,说明仪器精密度良好。

2.4.7 重复性试验 精密称取6份样品,分别置于25mL量瓶中,用甲醇溶解并定容,按色谱条件项下方法检测,计算鞣花酸含量,测得RSD 1.59%,说明方法重复性良好。

2.4.8 稳定性考察 取供试品溶液,分别于0,2,4,6,8,10,12h进样,按色谱条件测定,记录鞣花酸峰面积,计算RSD 1.62%,表明稳定性良好。

2.4.9 加样回收率试验 精密称量9份已知含量的样品2mg,分别置于25mL量瓶中,加甲醇定容至刻度,分别精密吸取3mL至100量瓶中,分成3组,每组分别加入鞣花酸对照品溶液(0.1022g·L⁻¹)1.0,1.5,2.0mL,用甲醇定容至刻度。按色谱条件进行测定,计算回收率,结果平均回收率98.12%,RSD 1.28%,见表5。由结果可知,采用该方法测定片剂中鞣花酸含量,回收率较好。

2.4.10 样品测定 取鞣花酸片剂50片,按供试品项下配制样品,精密吸取10μL进样,按下列公式计算,结果鞣花酸片平均含量为42.72%,平均标示量为92.5%。色谱图见图1。

$$\text{片剂含量} = C_x \times D / W \times 100\% ;$$

$$\text{标示量} = C_x \times D \times W_{\text{平均}} / (W \times B) \times 100\% .$$

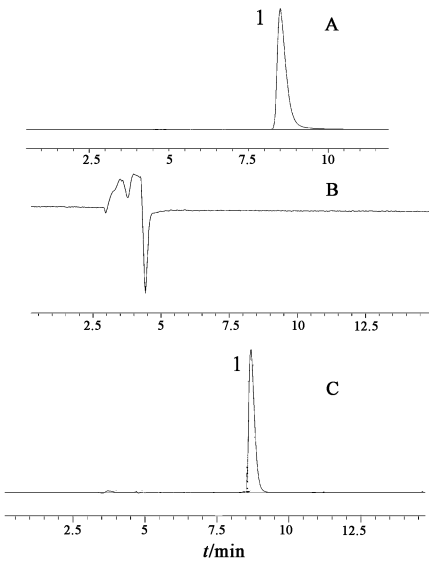
其中 C_x 表示供试品溶液浓度; D 表示供试品溶液稀释体积; B 表示片剂标示量; W 表示供试品称取量; $W_{\text{平均}}$ 表示单位片剂平均质量。

3 讨论

本试验采用湿法制粒压片,压制的片剂外形美观、流动性好、耐磨性强、压缩成形性好,但对热敏性、湿敏性、极易溶解的物料效果不好。鞣花酸片处方中崩解剂采用外加法。白慧东等^[12]研究表明CMS-Na具有良好崩解作用,其体积膨胀率约为300%,但其用量受到一定限制,一般在3%~8%。本试验建立了采用HPLC测定鞣花酸片剂含量的方

表 5 鞣花酸片剂加样回收率试验

样品称量 /mg	样品中含量 / μg	对照品加 入量/ μg	理论值 / μg	测得值 / μg	回收率 /%
2.1	27.0	10.2	37.24	36.40	97.75
2.2	27.8	10.2	37.99	36.62	96.39
2.1	26.1	10.2	36.3	35.82	98.68
2.0	25.6	15.3	40.88	40.86	99.95
2.1	26.3	15.3	41.61	40.82	98.10
2.0	25.9	15.3	41.2	40.49	98.28
1.9	24.6	20.4	45	44.38	98.62
2.0	26.0	20.4	46.4	44.56	96.03
1.9	24.7	20.4	45.17	44.85	99.29



A. 对照品; B. 空白对照; C. 样品; 1. 鞣花酸

图 1 鞣花酸片剂 HPLC

法,该方法快速、简便、灵敏、重复性好,可用于控制鞣花酸制剂产品质量。

[参考文献]

[1] 李素琴,袁其朋,徐建梅. 鞣花酸的生理功能及工艺

开发研究现状[J]. 天然产物研究与开发, 2001, 13 (5):71.

[2] Kote J Z, Easton D, Edwards S M, et al. Relationship between glutathione S-transferase M₁, P₁ and T₁ polymorphisms and early onset prostate cancer [J]. Pharmacogenetics, 2001, 11(4):325.

[3] Barch D H, Rundhaugen L M, Pillay N S. Ellagic acid induces transcription of the rat glutathione S-transferase-ya gene [J]. Carcinogenesis, 1995, 16(3):665.

[4] Vari Lieshout E M, Bedaf M M, Pieter M, et al. Effects of dietary anticarcinogens on rat gastrointestinal glutathione S-transferase theta 1-1 levels[J]. Carcinogenesis, 1998, 19(11):2055.

[5] Lin S S, Hung C F, Tyan Y S, et al. Ellagic (correction of ellagica) acid inhibits arylamine N-acetyltransferase activity and DNA adduct formation in human bladder tumor cell lines (T24 and TSGH 8301) [J]. Urological Res, 2001, 29(6):371.

[6] Lin S S, Hung C F, Ho C C, et al. Effects of ellagic acid by oral administration on N-acetylation and metabolism of 2-aminofluorene in rat brain tissues [J]. Neurochemical Res, 2000, 25(11):1503.

[7] Smith W A, Gupta R C. Determining efficacy of cancer chemopreventive agents using a cell-free system concomitant with DNA adduction[J]. Mutat Res, 1999, 425(1):143.

[8] 郑英俊,梁武,彭荣章. 鞣花酸抗肿瘤作用的分子机制[J]. 国际肿瘤学杂志, 2007, 34(1):11.

[9] 郑英俊, 阳宁, 彭荣章, 等. 鞣花酸对前列腺癌 PC-3 细胞生长和凋亡的影响 [J]. 湖北职业技术学院学报, 2009, 12(2):101.

[10] 周本宏,吴振华,刘春,等. 石榴皮中鞣花酸的提取工艺研究[J]. 中国医药报, 2008, 5(24):50.

[11] 周本宏,吴振华,刘春,等. 高效液相色谱测定石榴皮鞣花酸的含量[J]. 广东药学报, 2005, 21(6):693.

[12] 白慧东,蒋玉凤,曹丽蒙,等. 几种分散片崩解剂的性能与应用现状[J]. 新疆医学, 2007, 37(1):162.

[责任编辑 全燕]