

综合评价砂仁挥发油- β -环糊精包合物的质量

唐灿¹, 王利国², 张彦燕¹, 黄群莲², 王谦¹, 吴知桂², 赵剑²

(1. 泸州医学院药学院, 四川 泸州 646000; 2. 泸州医学院附属中医医院, 四川 泸州 646000)

[摘要] 目的: 以砂仁挥发油主要有效成分-乙酸龙脑酯- β -环糊精包合率为主要质控指标, 以砂仁挥发油- β -环糊精包合物收得率为辅助质控指标, 综合评价砂仁挥发油- β -环糊精包合物的质量。方法: 通过气相色谱法测定砂仁挥发油- β -环糊精包合物中乙酸龙脑酯的含量并采用扫描紫外光谱法、气相色谱法对砂仁挥发油- β -环糊精包合物进行质量检查。结果: 3 批砂仁挥发油- β -环糊精包合物中, 乙酸龙脑酯- β -环糊精包合率平均值 22.57%, RSD 1.752%; 挥发油- β -环糊精包合物收得率平均值 84.04%, RSD 0.1574%。结论: 上述 3 批砂仁挥发油- β -环糊精包合物成功包合且包合前后砂仁挥发油主要有效成分基本一致; 乙酸龙脑酯- β -环糊精包合率、挥发油- β -环糊精包合物收得率较高, 成功地建立了砂仁挥发油- β -环糊精包合物较为完善的质量标准。

[关键词] 砂仁挥发油- β -环糊精包合物; 气相色谱法; 乙酸龙脑酯- β -环糊精包合率; 挥发油- β -环糊精包合物收得率

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)09-0005-04

Comprehensive Evaluation on Quality of Amomum Villosum Volatile Oil- β -cyclodextrin Inclusion Compound

TANG Can¹, WANG Li-guo², ZHANG Yan-yan¹, HUANG Qun-lian³, WANG Qian¹, WU Zhi-gui³, ZHAO Jian²

(1. The Pharmacy School Of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, China;

2. The Department of Pharmacy In The Traditional Chinese Medicine Hospital Affiliated With Luzhou Medical College, Luzhou 646000, China; 3. The Department Of Pharmacy

In The Hospital Affiliated With Luzhou Medical College, Luzhou 646000, China)

[Abstract] **Objective:** A comprehensive evaluation on the quality of amomum villosum volatile oil- β -cyclodextrin inclusion compound was carried out by taking the inclusion rate of bornyl acetate - β -cyclodextrin inclusion compound as the major quality index, and the yield of volatile oil- β -cyclodextrin inclusion compound as the supplementary quality index. **Method:** The content of bornyl acetate in amomum villosum volatile oil- β -cyclodextrin inclusion compound was determined by GC. **Result:** In three batches amomum villosum volatile oil- β -cyclodextrin inclusion compound, inclusion rate of bornyl acetate was averaged 22.57%, RSD 1.752%; the yield of volatile oil- β -cyclodextrin inclusion compound was 84.04%, RSD 0.1574%. **Conclusion:** Amomum villosum volatile oil in three batches was successfully included by β -cyclodextrin, the major effective composition-bornyl acetate in amomum villosum volatile oil was constant, and the content of t amomum villosum volatile oil- β -cyclodextrin inclusion compound in three batches was very high. The quality standard of amomum villosum volatile oil - β -cyclodextrin inclusion compound was established.

[Key words] amomum villosum volatile oil- β -cyclodextrin inclusion compound; GC; the inclusion rate of bornyl acetate- β -cyclodextrin inclusion compound; the yield of volatile oil- β -cyclodextrin inclusion compound

[收稿日期] 20100105(002)

[基金项目] 四川省卫生厅科研项目(川卫办发[2007]437号); 泸州医学院重点科研项目(2004-10-86)

[第一作者] 唐灿, 硕士, 教授。研究方向: 中药制剂工艺与质量标准研究。Tel: 0830-3397225; E-mail: tang9670625@163.com

砂仁为姜科植物阳春砂、绿壳砂、海南砂的干燥成熟果实,具有化湿行气、温中止呕止泻、安胎之功效,主要用于湿邪困脾、脾胃气滞、脾胃虚寒吐泻以及气滞妊娠恶阻,胎动不安等症。砂仁主含挥发油,油中主要有效成分为乙酸龙脑酯。现代研究证明砂仁行气止痛、温脾止泻、安胎的有效部位为挥发油,与乙酸龙脑酯密不可分。采用 β -环糊精包合砂仁挥发油及其主要有效成分乙酸龙脑酯,既可以有效避免砂仁挥发油因逸散流失导致的疗效降低和药材资源浪费,有利于中医药的可持续发展;又可将液体的砂仁挥发油制备成固体分散状态的 β -环糊精包合物,提高了制剂的稳定性和疗效,有利于砂仁制剂高效、速效地发挥临床疗效,充分体现中医药现代新制剂的特色。目前国内外在制定挥发油- β -环糊精包合物质量标准时,通常只考察挥发油- β -环糊精包合物收得率。本课题力图建立一套砂仁挥发油- β -环糊精包合物质量综合评价体系:以砂仁挥发油主要有效成分乙酸龙脑酯- β -环糊精包合率为主要质控指标,以砂仁挥发油- β -环糊精包合物收得率为辅助质控指标,综合评价砂仁挥发油- β -环糊精包合物的质量。为丰富和完善挥发油- β -环糊精包合物质量标准提供一种新的思路和方法。

1 仪器与药物

GX-300A 氮、氢、空三气一体发生器(北京市中兴科技发展有限公司),GC112A 气相色谱仪(上海分析仪器厂),FA1104W 电子分析天平(上海民桥精密仪器有限公司);砂仁药材购自泸州市荷花中药有限公司(批号 070801,采自云南省西双版纳州),经课题组鉴定为阳春砂; β -环糊精(中国医药集团上海化学试剂公司,批号 20040308,纯度大于 99%);乙酸乙酯(分析纯)、乙酸龙脑酯化学对照品(759-200102 中国药品生物制品检定所)。

2 方法与结果

2.1 气相色谱法测定乙酸龙脑酯的色谱条件 色谱柱硅烷化 102 白色载体(60~80 目)、固定液 5% SE-30(3 mm \times 2 m, 不锈钢柱);柱温程序升温 80~140 ($15 \cdot \text{min}^{-1}$), 140~200 ($40 \cdot \text{min}^{-1}$);载气 N_2 ;流速 30 $\text{m} \cdot \text{min}^{-1}$; H_2 流速 20 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$;空气流速 200 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$;初始、升温、终止时间均为 5 min;FID 检测器。按此色谱条件,供试品与乙酸龙脑酯对照品峰保留时间一致(见图 1),溶剂空白乙酸乙酯在该保留时间无吸收峰,符合测定

要求^[11]。

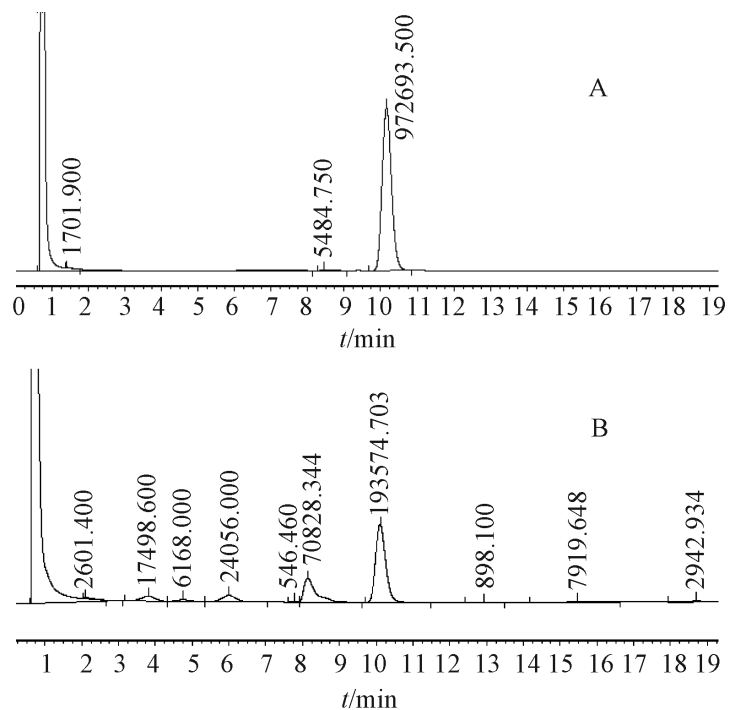


图 1 乙酸龙脑酯含量测定 HPLC 图

A. 乙酸龙脑酯对照品; B. 砂仁油- β -环糊精包合物

2.2 供试品溶液的制备 以砂仁挥发油- β -环糊精包合物主要有效成分-乙酸龙脑酯- β -环糊精包合率为主要工艺优选指标,以砂仁挥发油- β -环糊精包合物收得率为辅助工艺优选指标的思路和方法,综合考察砂仁挥发油- β -环糊精包合物最佳包合工艺为:每 1 mL 挥发油用 β -环糊精 8 g, β -环糊精:水为 1:15,包含温度 60 $^{\circ}\text{C}$,搅拌 3 h(另文报道)^[2]。按此优选工艺制备 3 批砂仁挥发油- β -环糊精包合物,40 $^{\circ}\text{C}$ 干燥至恒重后,收集所得粉末状白色包合物并精密称定,置 500 mL 圆底烧瓶中,加入蒸馏水 250 mL,按挥发油测定法(《中国药典》(2005 年版一部附录 XD 甲法)测定,至油量不再增加时停止加热^[3]。收集挥发油,乙酸乙酯定容于 10 mL 量瓶中,摇匀,用定量滤纸过滤后直接进样,每次进样 1 μL 测定。

2.3 线性关系考察 精密称取乙酸龙脑酯化学对照品 0.1927 g,用乙酸乙酯溶解定容于 10 mL 量瓶中,配制成浓度为 19.27 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品溶液。以乙酸龙脑酯进样量 M 为横坐标,以峰面积 A 为纵坐标,线性回归方程 $A = 6070.1572 + 51976.5654M$, $r = 0.9990$ ($n = 11$),在 0.03854~19.27 μg 呈现良好的线性关系。

2.4 精密度试验与稳定性试验 乙酸龙脑酯对照品溶液,每隔 36 min 进样 1 次,每次 0.5 μL ,连续进样 12 次,精密度试验 RSD 2.06%,表明仪器精密度良好;稳定性试验 RSD 2.71%,表明乙酸龙脑酯在 6 h 内测定含量稳定。

2.5 回收率试验 取已测定含量的供试品 6 份, 加入乙酸龙脑酯对照品适量, 同法制备供试品溶液, 定量测定并计算回收率, 平均回收率 99.4%, RSD 0.988%。

采用水蒸气蒸馏法提取砂仁挥发油- β -环糊精包合物中的乙酸龙脑酯, 经测定, 乙酸龙脑酯平均空白回收率为 97.7%。

2.6 挥发油- β -CD 包合物收得率、乙酸龙脑酯- β -CD 包合率计算公式

挥发油- β -CD 包合物收得率 = 包合物质量 (g) / [挥发油投入量 (g) + β -CD 量 (g)] $\times 100\%$

乙酸龙脑酯- β -CD 包合率 = 包合物中乙酸龙脑酯含量 (g) / [挥发油投入量 (g) \times 空白回收率] $\times 100\%$

加权评分/综合评分公式 = 30 \times 挥发油- β -CD 包合物收得率 / 86.36 + 70 \times 乙酸龙脑酯- β -CD 包合率 / 20.72

2.7 包合物测定结果 见表 1。

表 1 3 批 β -环糊精包合物测定

No.	乙酸龙脑酯质量 浓度 / g · L ⁻¹	挥发油包合物 收得率 / %	乙酸龙脑酯 包合率 / %	综合评分
1	22.20	84.14	22.70	105.92
2	22.05	83.89	22.55	105.32
3	21.98	84.09	22.47	105.12
平均值	22.07	84.04	22.57	105.45

2.8 砂仁挥发油- β -环糊精包合物质量检查

2.8.1 供试液制备 1 号供试液: 精密量取砂仁挥发油 1 mL, 用乙酸乙酯定容于 100 mL 量瓶中, 摇匀, 过滤备用; 2 号供试液: 取 β -环糊精包合物样品溶液 [精密称取所得乙酸龙脑酯- β -CD 粉末状白色包合物约 50 g, 置 500 mL 圆底烧瓶中, 加入蒸馏水 250 mL, 按挥发油测定法 (《中国药典》一部附录 XD 甲法) 测定, 至油量不再增加时停止加热。收集挥发油, 用乙酸乙酯定容于 10 mL 量瓶中, 摇匀, 过滤即得] 1 mL, 用乙酸乙酯定容于 10 mL 量瓶中, 摇匀, 过滤备用; 3 号供试液: 取砂仁包合物的无水乙醇末次洗脱液于蒸发皿中, 40 $^{\circ}$ C 恒温水浴上挥干乙醇, 加乙酸乙酯溶解并定容于 10 mL 量瓶中, 摇匀, 过滤备用; 4 号供试液: 精密称取 8 g 环糊精, 置 500 mL 烧瓶中, 加乙酸乙酯回流 1 h, 滤液定容于 10 mL 量瓶中, 摇匀, 过滤备用。

2.8.2 紫外扫描检测 取上述样品溶液分别进行紫外扫描检测, 1, 2 号样品溶液有紫外吸收, 4 号无相应吸收。说明包合物已形成。3 号吸收图谱有较弱吸收, 说明包合物经洗涤已基本洗去残存 β -CD 表

面的挥发油。见图 2。

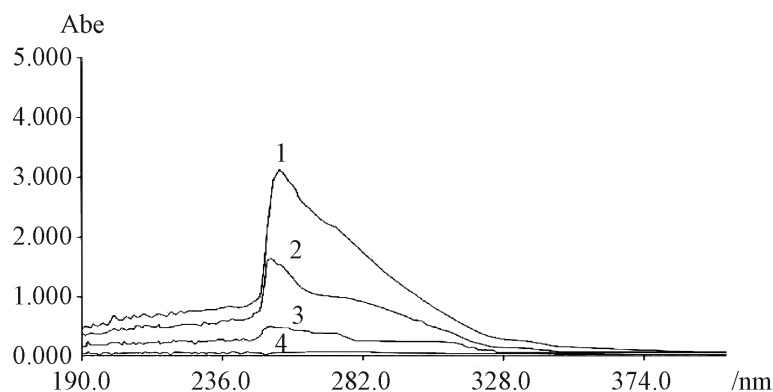


图 2 供试液紫外扫描

2.8.3 气相色谱法 通过比较成分与包合物的气相色谱图, 从吸收峰的位置和数目来判断包合前后主成分的变化情况。分别精密吸取乙酸龙脑酯对照品溶液 1 μ L、水蒸汽蒸馏法供试品溶液 (精密量取砂仁挥发油 1 mL, 用乙酸乙酯定容于 100 mL 量瓶中, 摇匀, 过滤即得) 1 μ L、乙酸龙脑酯- β -CD 1 μ L 供试品溶液 (精密称取所得乙酸龙脑酯- β -CD 粉末状白色包合物约 50 g, 置 500 mL 圆底烧瓶中, 加入蒸馏水 250 mL, 按挥发油测定法 (《中国药典》一部附录 XD 甲法) 测定, 至油量不再增加时停止加热。收集挥发油, 用乙酸乙酯定容于 10 mL 量瓶中, 摇匀, 过滤即得) 注入 GC, 照 2.1 项乙酸龙脑酯 GC 色谱条件下测定, 所得色谱图显示: 2 个样品中乙酸龙脑酯色谱峰与乙酸龙脑酯对照品色谱峰基本一致, 且包合前后挥发油中的各主要成分也基本一致。

3 讨论

上述研究成果基本都是围绕砂仁挥发油- β -环糊精包合物主要有效成分乙酸龙脑酯为中心展开的。由于中医药发挥的是整体效应, 多成分性、多靶向性、多效应性是其基本特点。研究表明, 砂仁中富含挥发油, 是其主要的活性部位, 挥发油中主含乙酸龙脑酯, 次之为樟脑。研究发现, 砂仁行气止痛、温脾止泻、安胎的有效部位为挥发油, 与乙酸龙脑酯密不可分。砂仁化湿健脾的有效部位为水煎液中的槲皮苷、异槲皮苷^[4]。因此在后续研究项目中, 还应在提取工艺、砂仁有效成分- β -环糊精包合物制备工艺和质量标准研究中尽可能多地将砂仁水煎液中的槲皮苷、异槲皮苷提取分离出来, 同时以槲皮苷、异槲皮苷为指标优选砂仁水提取工艺, 同时以槲皮苷、异槲皮苷为指标优选砂仁有效成分- β -环糊精包合物制备工艺, 建立 HPLC 同时测定砂仁有效成分- β -环糊精包合物中槲皮苷、异槲皮苷含量的方法。以期

(下转第 11 页)

正交试验法优选补肾益髓颗粒提取工艺

刘起华, 文谨, 孙玉雯

(中国中医科学院广安门医院, 北京 100053)

[摘要] 目的: 优选补肾益髓颗粒的最佳提取工艺。方法: 采用正交试验的方法, 以马钱苷、补骨脂素、异补骨脂素的含量为指标, 筛选补肾益髓颗粒中山茱萸、补骨脂的最佳醇提工艺; 以淫羊藿苷含量、干膏率为考察指标, 筛选最佳水提工艺条件。结果: 补肾益髓颗粒中山茱萸、补骨脂的最佳醇提工艺为加入 8 倍量 60% 乙醇, 提取 3 次, 每次 1 h。最佳水提工艺为加 10 倍量水, 提取 3 次, 每次 1 h。结论: 优选得到的工艺稳定可行。

[关键词] 补肾益髓颗粒; 山茱萸; 补骨脂; 淫羊藿; 正交试验; 提取工艺

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)09-0008-04

Optimization of Extraction Technology of Bushen Yisui Granule by Orthogonal Test

LIU Qi-hua, WEN Jin, SUN Yu-wen

(Guang'an Men Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize the extraction technology of Bushen Yisui Granule. **Method:** An orthogonal test was adopted in this study. The content of loganin, psoralen and isopsoralen was used as index for optimizing the extraction condition with ethanol for *Cornus officinalis* and *Salvia miltiorrhiza*. The content of icaiin and the dried decocting rates was used as index for optimizing the extraction condition with water. **Result:** The best ethanol extraction technology was to extract for 1 h with 8 times of 60% ethanol 3 times. The best water extraction technology was to extract for 1 h with 10 times of water 3 times. **Conclusion:** The optimized extraction technology was rational and can be used for the extraction process of Bushen Yisui Granule.

[Key words] Bushen Yisui Granule; *Cornus officinalis*; *Salvia miltiorrhiza*; *Herba Epimedii*; orthogonal test; extraction technology

补肾益髓颗粒是由淫羊藿、山茱萸、补骨脂、黄芪、熟地黄等中药研制而成的中药制剂, 具有温补肾阳, 益髓生血, 补气健脾等功效。为充分提取处方中各药材的有效成分, 依据方中各药材的主要活性成分的理化性质和药理作用, 将处方中药材分为醇提和水提组, 山茱萸、补骨脂为醇提组^[1-3], 淫羊藿、黄芪、熟地黄^[4]等为水提组。本试验采用 $L_9(3^4)$ 正交

设计法, 进行醇提工艺及水提工艺的筛选。

1 仪器与试剂

Waters 2695 型液相色谱仪 (PAD 检测器, 四元泵, 自动进样, Waters M32 色谱工作站), 电子天平 (梅特勒-托利多仪器有限公司), 超声波清洗器 (上海必能信超声有限公司)。

马钱苷对照品 (批号 111640-200604)、补骨脂素对照品 (批号 110739-200511)、异补骨脂素对照品 (批号 0738-200108), 淫羊藿对照品 (批号 110737-200312), 以上对照品均购于中国药品生物制品检定所; 山茱萸、补骨脂、淫羊藿等药材购于北京市本草方源药业有限公司。乙腈、甲醇为色谱纯, 蒸馏水 (屈臣氏), 其他试剂均为分析纯。

[收稿日期] 20100402(002)

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划 (973 计划) (2010CB530406)

[第一作者] 刘起华, 硕士, 副主任药师, 主要从事中药新制剂的研发。Tel: 010-60214943, E-mail: gam-yaoyan@163.com