

## 灯盏花素凝胶剂的制备及质量控制

方睿,王成芳,刘子沐,费超,杜树山\*

(北京师范大学中药资源保护与利用北京市重点实验室,北京 100875)

**[摘要]** 目的:制备灯盏花素凝胶剂,并以野黄芩苷含量、凝胶 pH 等为质量控制指标,建立质量控制方法。方法:以灯盏花素为主药,卡波姆 940 等为基质,制备灯盏花素凝胶剂。对其性状进行评价,测量 pH,建立高效液相色谱法测定野黄芩苷含量的方法,并进行初步稳定性研究。结果:灯盏花素凝胶剂性状稳定、pH 在 6.00~7.00,符合 2010 年版《中国药典》规定,凝胶中野黄芩苷含量不少于 8 mg·g<sup>-1</sup>,且初步稳定性良好,可长期存放。结论:灯盏花素凝胶剂的质量稳定,控制方法简便可行,结果准确可靠,重复性好,可作为本制剂的质控标准。

**[关键词]** 灯盏花素凝胶剂;野黄芩苷;高效液相色谱;质量控制;稳定性

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)24-0052-04

## Preparation and Quality Control of Breviscapine Gel

FANG Rui, WANG Cheng-fang, LIU Zi-mu, FEI Chao, DU Shu-shan\*

(Protection and Utilization of Traditional Chinese Medicine of Beijing Area Major Laboratory, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

**[Abstract]** **Objective:** To prepare breviscapine gel and use scutellarin content and pH as the major effective index to establish an accurate method for its quality control. **Method:** The gel was prepared by taking breviscapine as main component and carbopol as material. Valuation the gel with appearance and pH. The content of the component in the gel was determined by HPLC. **Result:** The properties is stabilization, pH between 6.00-7.00 all in line with the rules of The Pharmacopoeia of PRC(2010), content of scutellarin in breviscapine gel is above 8 mg·g<sup>-1</sup>. Moreover, the gel was uniformity and stability. **Conclusion:** The method is simple, reliable and accurate, and can be used for the quality control of breviscapine gel.

**[Key words]** breviscapine gel; scutellarin; HPLC; quality control; stability

灯盏花素是菊科植物短葶飞蓬 *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand. Mazz. 的干燥全草提取物,其中灯盏乙素(野黄芩苷)占 90% 以上,是治疗心脑血管疾病的临床常用药物之一,具有增加血流

量、改善微循环、扩张血管、降低血黏度、降血脂、促纤溶、抗血栓、抗血小板聚集等作用<sup>[1]</sup>。目前常用片剂、注射剂等,存在溶出度不高、生物利用度低等缺点<sup>[2]</sup>。中药凝胶剂生物利用度高、黏附性好,可应用于黏膜及腔道,作用持久,有缓释、控释作用,可避免肝脏首过效应,降低药物毒性及不良反应,使用方便、感受舒适<sup>[3]</sup>。本课题首次制备了灯盏花素凝胶剂,并建立其质量标准。

### 1 材料

**1.1 仪器** Waters 1515 高效液相色谱仪(美国 waters 公司),Waters 2487 紫外可见检测器(美国 waters 公司),Mellennium<sup>32</sup> 色谱工作站(美国 Waters 公司),KQ-250 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有

**[收稿日期]** 2011-05-03

**[基金项目]** 北京教育委员会共建项目建设计划(SYS100270430);北京市新医药学科群重点支持项目(xk100270569)

**[第一作者]** 方睿,硕士,从事中药药剂研究, Tel: 010-62208032, E-mail: fangrui@mail.bnu.edu.cn

**[通讯作者]** \* 杜树山,博士,从事中药及其民族药物物质基础研究, Tel: 010-62208032, E-mail: dushushan@bnu.edu.cn

限公司),AG135 1/10 万电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo),MIPCC227 型 pH 电导仪(瑞士 Mettler Toledo),AX205 型 1/1 万电子天平(瑞士 Mettler Toledo)

**1.2 试药** 野黄芩苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110842-200504),灯盏花素(云南云科药业有限公司,批号 20091011),色谱纯甲醇(Fisher scientific 公司,批号 1104 L-6804),灯盏花素凝胶剂(自制,批号 20110310,20110311,20110312),其他试剂为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 处方与制备

**2.1.1 处方** 在文献报道及预实验的基础上,对基质种类、用量及配制方法,pH 调节剂种类及用量,保湿剂用量,凝胶的制备方法,处方,透皮吸收促进剂种类及用量等方面进行考察,最终优选的处方组成为灯盏花素为  $10 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,CP940,*N*-甲基吡咯烷酮,氮酮,甘油,三乙醇胺,尼泊金甲酯,加去离子水至处方量。

**2.1.2 制备** 将处方量的卡波姆 940 均匀撒于适量水和甘油中,搅拌均匀,放置过夜溶胀。灯盏花素、氮酮及 *N*-甲基吡咯烷酮加入溶胀好的胶液中,充分搅拌均匀;尼泊金甲酯取少量乙醇溶解,加入混合均匀;缓慢滴入三乙醇胺,边加边搅拌,加水至足量,分散均匀即得。

### 2.2 质量控制

**2.2.1 性状** 本品为均匀、细腻、黏稠适宜的黄色凝胶。

#### 2.2.2 检查

**2.2.2.1 pH 测定** 称取凝胶剂 1 g,加入 20 mL 纯化水(煮沸放冷)中,超声使溶解,放至稳定,补重,过滤,测量。pH 在 6.00~7.00。

**2.2.2.2 微生物检查** 按照 2010 年版《中国药典》(一部)附录 XIII 项下有关规定检测,为无菌。

### 2.3 含量测定

**2.3.1 色谱条件与系统适应性** 色谱柱 Waters Symmetry Shield™ RP<sub>18</sub> (4.6 mm × 150 mm, 3.5 μm),流动相 甲醇-0.1% 磷酸水溶液(40:60),检测波长 335 nm,流速  $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,柱温  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ ,进样量  $10 \text{ } \mu\text{L}$ 。

**2.3.2 对照品溶液的制备** 精密称取在五氧化二磷干燥器中干燥至恒重的野黄芩苷对照品 2.01 mg,置 10

mL 量瓶中,加甲醇 7 mL,超声处理(功率 300 W,频率 50 kHz) 45 min,取出,放置室温,加甲醇稀释并定容至刻度,摇匀,得  $201 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  野黄芩苷对照品溶液。

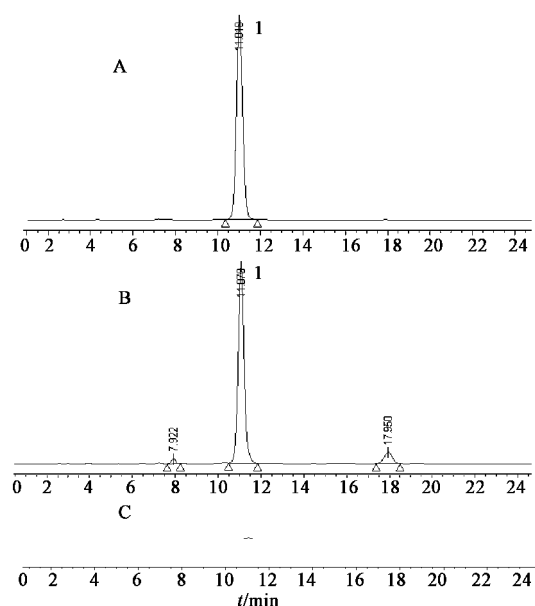
**2.3.3 供试品溶液的配制** 称取样品约 1 g,置 10 mL 量瓶中,加 HCl-MeOH(1:99) 至刻度,超声提取 30 min,放置室温,补重,滤过,取滤液 1 mL,挥干溶剂,甲醇溶解并定容至 10 mL,即得。

**2.3.4 空白溶液的配制** 称取除灯盏花素的其他辅料制成凝胶剂,按供试品制法制备。分别吸取上述 4 种溶液进样,按上述色谱条件进行检测。结果见图 1。

**2.3.5 标准曲线的绘制** 精密量取野黄芩苷对照品 2.01 mg,置于 10 mL 量瓶中,加甲醇溶解,稀释至刻度,配成  $201.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的标准溶液,再精密吸取一定量,依次稀释成 150.75,100.50,50.2,20.10,10.05  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的溶液。分别取  $10 \text{ } \mu\text{L}$  注入液相色谱仪中,记录色谱图。以进样量为横坐标,峰面积积分为纵坐标,绘制标准曲线,得到回归方程为  $Y = 30500706.62X - 36360.09$  ( $r = 0.9994$ ),表明野黄芩苷在 10.05~201.00 μg 线性关系良好。

**2.3.6 精密度** 取 2.3.2 项下的对照品溶液,吸取  $10 \text{ } \mu\text{L}$  连续进样 6 次,得到 RSD 0.19%。

**2.3.7 稳定性** 精密称取制剂样品约 1 g,按照 2.3.3 项下方法依法配制,分别在 0,2,4,8,12,24 h 进样,RSD 0.62%。



A. 对照品; B. 供试品; C. 空白基质; 1. 野黄芩苷

图 1 灯盏花淡定胶色谱

**2.3.8 重复性** 精密称取同一批制剂样品约 1 g, 按照 2.3.3.3 供试品溶液配制项下方法依法配制, 吸取 10 μL 连续进样 6 次, RSD 0.45%。

**2.3.9 加样回收试验** 取已知准确含量的同一批

样品 0.5 g, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中。精密加入野黄芩苷对照品溶液 2 mL (0.44 mg), 按 2.3.3 项下方法配置并测定, 结果见表 1。

表 1 灯盏花素凝胶液中野黄芩苷加样回收率试验 (n=6)

No.	样品重 /g	样品中含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	均值 /%	RSD /%
1	0.573 8	0.479 8	0.440 0	0.921 8	100.45		
2	0.563 4	0.470 6	0.440 0	0.921 0	102.36		
3	0.566 3	0.473 1	0.440 0	0.925 8	102.89		
4	0.578 1	0.482 9	0.440 0	0.917 7	98.82	100.38	2.48
5	0.550 1	0.459 5	0.440 0	0.905 9	101.45		
6	0.584 4	0.488 1	0.440 0	0.911 8	96.30		

**2.3.10 3 批验证试验** 精密称取 3 批不同批号灯盏花素凝胶剂制剂 (20110310, 20110311, 20110312), 每批平行测定 3 份, 按 2.3.3 项下方法制备, 并在上述色谱条件下测定, 计算样品中野黄芩苷的含量为 8.072, 8.057, 8.111 g·L<sup>-1</sup>, 均符合要求。

#### 2.4 初步稳定性试验

**2.4.1 高湿** 取 3 批凝胶剂 (批号 20110310, 20110311, 20110312), 将凝胶灌装在玻璃瓶中, 模仿市售包装, 在干燥器中放置 KNO<sub>3</sub> 饱和溶液 (25 °C, RH 92.5%) 将灌装好的 3 批凝胶, 以 2 种状态——开口放置、玻璃瓶密封放置, 放置 10 d, 于 0, 5, 10 d 取样检测。结果样品稳定, pH 为 6.53, 6.52, 6.60, 含量为 8.073, 7.985, 7.994 g·L<sup>-1</sup>。

**2.4.2 高温** 将上述仿照市售包装的 3 批凝胶剂 (批号 20110310, 20110311, 20110312), 于 60 °C 条件下放置, 于 0, 5, 10 d 取样进行各项检测。结果样品稳定, 色泽, pH 为 6.57, 6.54, 6.59, 含量为 8.057, 7.973, 7.976 g·L<sup>-1</sup>。

**2.4.3 低温** 取 3 批凝胶剂 (批号 20110310, 20110311, 20110312), 将凝胶灌装在玻璃瓶中, 密封保存, 放于冰箱冷冻室 -10 °C 中, 分别于 0, 5, 10 d 取样进行各项检测, 结果样品稳定, 色泽, pH 为 6.63, 6.59, 6.62, 含量为 8.111, 8.033, 8.016 g·L<sup>-1</sup>。

**2.4.4 离心** 3 批凝胶分别取 2 份, 约 7 g 左右, 调平, 于 3 000 r·min<sup>-1</sup> 的转速下离心 30 min, 观察凝胶, 3 批样品均无分层现象。

**2.4.5 耐寒耐热** 取上述包装好的样品置 4 °C 冰箱内放置 24 h, 观察凝胶。另取包装密封好的样品,

置 60 °C 干燥箱内恒温放置 12 h, 取出后放冷观察凝胶, 结果表明 3 批样品为黄色凝胶, 无分层、结块或沉淀等现象。pH 在 6.00 ~ 7.00, 均符合要求。

#### 3 讨论

根据制剂指导原则上的规定, 制剂的检测方法尽可能的和原料药一致, 在使用 2010 年版《中国药典》<sup>[4]</sup> 中灯盏花素提取物的色谱条件, 发现分离度和对称性均较好, 因此采用药典中的色谱条件进行分析。

由于灯盏花素凝胶剂的基质为卡波姆 940, 其黏性较大, 在使用甲醇超声提取的时候会出现溶液浑浊, 在用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤时难以过滤, 据文献报道<sup>[5]</sup>, 是因为制剂样品的凝胶基质卡波姆 940 被中和使羧基离子化后, 由于负电荷相互排斥作用, 分子链呈弥散伸展状态, 极大膨胀且具有黏性, 但当 pH < 3 或 pH > 12 时黏稠度降低。因此根据文献<sup>[6-7]</sup> 用 0.1 mol·L<sup>-1</sup> HCl, 即提取溶剂为 HCl-MeOH (1:99), 可使卡波姆基质沉析, 提取液透明, 容易过滤, 从而消除其干扰使得测量准确。

在选用辅料的时候尽量选择紫外无吸收或者在检测波长下无吸收的辅料, 消除辅料对于检测的影响, 以达到测量准确的效果。

由于灯盏花素在甲醇中溶解较慢, 因此在使用超声提取的时候对提取时间进行考察, 灯盏花素提取完全, 建立质量分析的方法才能确实准确可行。

通过初步稳定性实验考察灯盏花素凝胶剂, 表明制剂均匀, 分散性好; 在高湿、高温、低温和离心、耐寒耐热条件下, 制剂稳定, 无沉积、分层等现象, 药物含量及 pH 也无明显变化。

## HPLC 测定不同产地山药中腺苷含量

李军<sup>1\*</sup>, 岳易恒<sup>1</sup>, 张丽萍<sup>1</sup>, 郑园苗<sup>1</sup>, 郭海泉<sup>2</sup>, 张小凤<sup>2</sup>, 白雁<sup>1</sup>

(1. 河南中医学院, 郑州 450008; 2. 河南省武陟县永盛药材加工厂, 河南 焦作 454981)

**[摘要]** 目的: 分析不同产地的山药中腺苷的含量, 为山药质量标准的建立提供参考。方法: 采用高效液相色谱法, SunFire C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm 5 μm); 磷酸盐缓冲液(pH 6.5)-甲醇(85:15)为流动相, 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 检测波长 260 nm。结果: 10 批不同产地山药中腺苷含量介于 0.035 9~0.104 0 mg·g<sup>-1</sup>。结论: 该方法操作简便, 结果稳定可靠, 可用于山药的质量评价。

**[关键词]** 高效液相色谱; 山药; 腺苷含量

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)24-0055-03

### Determination of Adenosine in *Dioscorea opposita* from Different Cultivation Areas by HPLC

LI Jun<sup>1\*</sup>, YUE Yi-heng<sup>1</sup>, ZHANG Li-ping<sup>1</sup>, ZHENG Yuan-miao<sup>1</sup>, GUO Hai-quan<sup>2</sup>, ZHANG Xiao-feng<sup>2</sup>, BAI Yan<sup>1</sup>

(1. Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China;

2. Yongsheng Medicinal Material Processing Company of Wuzhi County Henan Province, Jiaozuo 454981, China)

**[Abstract]** **Objective:** To determine content of adenosine in *Dioscorea opposita* from the various cultivation areas. **Method:** A SunFire C<sub>18</sub> Colum (4.6 mm × 250 mm 5 μm) was used with Methanol-phosphate buffer(15:85) as the mobile phase. The detective wavelength was set at 260 nm and the flow rate was 1.0 mL·min<sup>-1</sup>. **Result:** Ten batches of the samples were analyzed. The content of adenosine ranged from 0.035 9-0.104 0 mg·g<sup>-1</sup>. **Conclusion:** The method was simple, reproducible and reliable. It can be used to control the quality of *D. opposita*.

**[Key words]** HPLC; *Dioscorea opposita* Thunb; adenosine

[收稿日期] 20110527(014)

[基金项目] 河南省重大公益科研项目(081100912500)

[通讯作者] \* 李军, Tel: 0371-65680518, E-mail: lijun8828@126.com

山药为薯蓣科植物薯蓣的干燥块茎, 始载于《神农本草经》, 列为上品。山药药性平和, 既补气又养阴, 上能养肺、中能补脾、下能益肾, 补而不滞、滋而不腻、温而不燥。具有益气养阴, 补脾肺肾, 固精止带的功效<sup>[1]</sup>。山药中含有淀粉、蛋白质、游离氨基酸

#### [参考文献]

- [1] 丁润芳, 李正翔. 灯盏花素制剂的临床应用[J]. 天津药学 2009, 21(2): 60.
- [2] 方睿, 杜树山. 灯盏花素制剂研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志 2011, 17(4): 233.
- [3] 赖宝林, 王利胜, 张升, 等. 中药凝胶剂的研究进展[J]. 中药新药与临床药理 2010, 21(2): 211.

- [4] 中国药典. 一部[S]. 2010: 387.
- [5] 刘丹. 复方血竭凝胶制备工艺及质量分析研究[D]. 武汉: 湖北中医学院 2009: 35.
- [6] 洪清, 袁曦, 陈庆伟, 等. 地冰凝胶的制备与质量控制[J]. 中国药房 2005, 16(1): 32.
- [7] 卢文芸, 邹豪, 蒋雪涛. 氟康唑粘附凝胶的研制[J]. 中国药房 2003, 14(10): 597.

[责任编辑] 蔡仲德