

中国科技核心期刊

中国科技论文统计源期刊

《中文科技期刊数据库》收录期刊

《中国期刊全文数据库》收录期刊

《中文生物医学期刊文献数据库-CMCC》收录期刊

《中国生物医学期刊引文数据库-CMCI》收录期刊

ISSN 1673-4890

CN 11-5442/R



中国现代中药

M O D E R N C H I N E S E M E D I C I N E

本期导读：加快创建现代养生茶产业
山东药用植物新记录属种——五福花属五福花
连作对嘉菊植株构件、抗病虫能力和产量的影响



嘉菊

ISSN 1673-4890



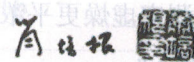
主管 国家中医药管理局
主办 中国中药协会
中国医药集团总公司
中国中药公司

2016 4

第18卷 第4期

Vol.18 No.4 Apr. 2016

中国现代中药



ZHONGGUO XIANDAI ZHONGYAO

月刊 1999年3月创刊 2016年4月 第18卷 第4期

目次

■ 专论

加快创建现代养生茶产业..... 刘年艳 (401)

■ 基础研究

山东药用植物新记录属种——五福花属五福花..... 颜士慧 张伟 赵宏 (405)

栝楼雄株茎叶酚酸类化学成分研究..... 刘飞 方磊 李佳 张永清 (407)

液质联用分析黄芪注射液中的有机小分子化学成分..... 张纲 胡雪娇 姜国志 刘艳丽 巴晓雨 (410)

毛冬青基因组 DNA 提取方法及 ISSR-PCR 反应体系的优化..... 付铨盛 卫滢 席秀丽 黄海波 (415)

紫草素抑制 STAT₃ 信号通路对人绒毛膜癌 JEG-3 细胞迁移和侵袭能力的影响..... 王慧智 李会影 徐清雨 马志 (420)

石榴叶总鞣质对正常和肥胖模型小鼠糖脂吸收的影响..... 蒋鑫 王欣佩 雷帆 余煊 邢东明 谢伟东 杜力军 (425)

风湿骨痛胶囊对炎性反应的影响..... 田瑜 黎云燕 (431)

基于 GC 指纹图谱及聚类分析评价黔琼产艾纳香质量..... 孙懂华 张影波 庞玉新 杨全 于福来 黄梅 (435)

丁座草药材指纹图谱的建立及质量评价..... 李宜航 宋美芳 吕娅娜 李学兰 李光 陈曦 (440)

HPLC-ELSD 测定川楝子中川楝素含量..... 孟杰 朱文俊 王礼均 黄国杰 宁鹤 文永盛 (444)

盾叶薯蓣药材质量标准研究..... 康阿龙 汤迎爽 孙文基 (448)

赤芍和白芍本质差异及未来发展的思考..... 付晓莹 孙慧峰 郭慧敏 孟祥才 (452)

..... 康阿龙 汤迎爽 孙文基 (448)

..... 付晓莹 孙慧峰 郭慧敏 孟祥才 (452)

..... 付晓莹 孙慧峰 郭慧敏 孟祥才 (452)

..... 付晓莹 孙慧峰 郭慧敏 孟祥才 (452)

..... 付晓莹 孙慧峰 郭慧敏 孟祥才 (452)

..... 付晓莹 孙慧峰 郭慧敏 孟祥才 (452)

..... 付晓莹 孙慧峰 郭慧敏 孟祥才 (452)

..... 付晓莹 孙慧峰 郭慧敏 孟祥才 (452)

..... 付晓莹 孙慧峰 郭慧敏 孟祥才 (452)

..... 付晓莹 孙慧峰 郭慧敏 孟祥才 (452)

..... 付晓莹 孙慧峰 郭慧敏 孟祥才 (452)

..... 付晓莹 孙慧峰 郭慧敏 孟祥才 (452)

..... 付晓莹 孙慧峰 郭慧敏 孟祥才 (452)

..... 付晓莹 孙慧峰 郭慧敏 孟祥才 (452)

..... 付晓莹 孙慧峰 郭慧敏 孟祥才 (452)

..... 付晓莹 孙慧峰 郭慧敏 孟祥才 (452)

..... 付晓莹 孙慧峰 郭慧敏 孟祥才 (452)

..... 付晓莹 孙慧峰 郭慧敏 孟祥才 (452)

..... 付晓莹 孙慧峰 郭慧敏 孟祥才 (452)

..... 付晓莹 孙慧峰 郭慧敏 孟祥才 (452)

..... 付晓莹 孙慧峰 郭慧敏 孟祥才 (452)

..... 付晓莹 孙慧峰 郭慧敏 孟祥才 (452)

..... 付晓莹 孙慧峰 郭慧敏 孟祥才 (452)

..... 付晓莹 孙慧峰 郭慧敏 孟祥才 (452)

..... 付晓莹 孙慧峰 郭慧敏 孟祥才 (452)

..... 付晓莹 孙慧峰 郭慧敏 孟祥才 (452)

· 中药工业 ·

百部总生物碱缓释片的质量标准研究[△]吴旖^{1,2*}, 赵斌^{1,2*}, 江仁望³

(1. 中山火炬职业技术学院, 广东 中山 528436;

2. 国家中药现代化工程技术研究中心 中山健康产品分中心, 广东 中山 528436;

3. 暨南大学 药学院, 广东 广州 510632)

[摘要] 目的: 建立百部总生物碱缓释片的质量控制标准。方法: 采用薄层色谱法对百部总生物碱缓释片中对叶百部碱进行定性鉴别, 采用固相萃取-高效液相-蒸发光检测法建立百部总生物碱缓释片中对叶百部碱的含量测定方法, 并测定其体外释放度。采用蒸发光散射检测器, 色谱柱为 Agilent Zorbax Extend-C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.12% 三乙胺溶液(40:60); 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 柱温为 25 ℃; 进样量为 30 μL; ELSD 参数为漂移管温度 97 ℃、空气流速为 3 mL·min⁻¹。结果: 本品定性鉴别薄层色谱特征明显, 专属性强。对叶百部碱的质量浓度为 0.02~0.30 mg·mL⁻¹ 与峰面积呈良好的线性关系, 平均回收率为 99.86%, 百部总生物碱缓释片在 2、8、12 h 的累积释放度分别为 10%~30%、50%~70%、80%~100%, 均符合规定。结论: 该分析方法简单、快速、准确、具有代表性, 可作为百部总生物碱缓释片的质量控制方法。

[关键词] 百部; 总生物碱; 缓释片; 高效液相色谱法; 体外释放度

Study on Quality Standard of Stemona Alkaloids Sustained-release Tablets

WU Yi^{1,2*}, ZHAO Bin^{1,2*}, JIANG Renwang³

(1. Zhongshan Torch Polytechnic, Zhongshan 528436, China;

2. Zhongshan health products center, National Engineering Research Center for modernization of traditional Chinese Medicine, Zhongshan 528436, China;

3. College of Pharmacy Jinan University, Guangzhou 510632, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the quality control standard for the total alkaloids sustained-release tablets. **Methods:** The total alkaloids in the Radix Stemona sustained release tablets were identified by TLC, and the content of the total alkaloids was determined by SPE-HPLC-ELSD method, and also the release rate of the Stemona alkaloids was determined. The method parameters were as follows: Evaporative light-scattering detector; Chromatographic column: Agilent Zorbax Extend-C₁₈ (250 × 4.6 mm, 5 μL); Mobile phase: acetonitrile-0.12% triethylamine solution (40:60); Flow rate: 1.0 mL·min⁻¹; Column temperature 25 ℃; Sample quantity: 30 (including 1; ELSD parameters: the drift tube temperature is 97 ℃; The air flow rate for 3 mL·min⁻¹. **Results:** This product characterized obviously in TLC, and the specificity was strong. Tubero stemonine concentration with peak area over the 0.02-0.30 mg·mL⁻¹ range showed a good linear relationship. The average recovery rate was 99.86%, the accumulative release rate of total alkaloids sustained-release tablets were 10%-30%, 50%-70%, 80%-100%, respectively, at 2, 8, 12 h, which conformed to the stipulation. **Conclusion:** The analysis method is simple, fast, accurate and representative, which can be used as the quality control method of the total alkaloids sustained-release tablets.

[Keywords] Radix Stemona; total alkaloids; sustained-release tablets; HPLC; *in vitro* release

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.2016.4.023

[△][基金项目] 广东省新药创制重大专项(2013A022100029); 中山市社会发展攻关项目(2013A3FC0325)

*[通信作者] 吴旖, 副主任药师, 研究方向: 药物制剂的研究与开发; Tel: (0760)88291713, E-mail: 52419050@qq.com

百部是一味具有镇咳活性的传统中药,始载于公元500年左右陶景洪编纂的《名医别录》。现在,百部仍然是镇咳复方中的常用中药。根据《中华人民共和国药典》2010年版一部收载^[1],百部为百部科植物直立百部 *Stemona sessilifolia* (Miq) Miq.、蔓生百部 *Stemona japonica* (BL.) Miq. 或对叶百部 *Stemona tuberosa* Lour. 的干燥块根。前期研究发现,百部生物碱是百部主要的镇咳活性成分^[2],镇咳有效部位BB-1(为总生物碱且不含金大刚碱等小毒成分)具有显著的镇咳活性^[3],与传统镇咳药相比,其可针对咳嗽的多种原因进行镇咳,具有高效、低毒的优势。目前,国内外对百部总生物碱药物制剂的研究未见文献报道,本研究在百部总生物碱缓释片工艺研究的基础上,采用SPE-HPLC-ELSD法^[4]建立百部总生物碱缓释片中对叶百部碱的含量测定方法,并对其体外释放度^[5]进行研究,为建立百部总生物碱缓释片的质量标准,有效控制制剂质量提供参考^[6]。

1 仪器与材料

1.1 仪器

1200 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);2000 蒸发光散射检测器(美国奥泰公司);DK-S22 电热恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司);ZRS-8G 智能溶出仪(天大天发科技有限公司);SB-5200DT 超声仪(宁波新芝生物科技股份有限公司);BP61 型电子天平(德国 Satorius);UPT-I-10T 超纯水器(成都超纯科技有限公司);恒温水浴锅(金坛市鸿科仪器厂)。

1.2 材料

百部总生物碱提取物由本课题组提取分离获得;对叶百部碱对照品由本课题组从对叶百部中提取分离获得;百部总生物碱缓释片(自制,批号分别为20141001,20141002,20141003);乙腈为色谱纯(上海纯晶实业有限公司);3 mL×500 mg 固相萃取柱(美国色谱科技公司);其他试剂均为分析纯。

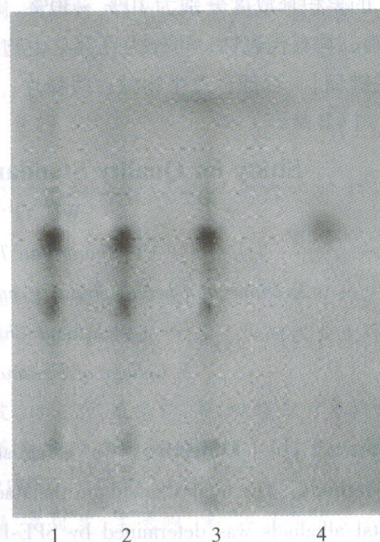
2 方法

2.1 对叶百部碱薄层色谱鉴别

精密称取对叶百部碱对照品适量,置于25 mL 容量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,配制对照品溶液。取10粒百部总生物碱缓释片,快速研匀后,精密称定1.0 g,加入50 mL 50%甲醇,超声溶

解,过滤,滤饼用5 mL 50%甲醇洗涤,合并滤液和洗液,并转移至已处理好的C₁₈固相萃取小柱中,先用5 mL水洗脱,再用5 mL甲醇洗脱,收集甲醇洗脱液,转移至25 mL的容量瓶中,甲醇定容至刻度,精密量取甲醇溶液1.0 mL至25 mL量瓶中,甲醇定容至刻度,即得供试品溶液。

依照《中华人民共和国药典》2010年版一部附录VIB薄层色谱法试验,分别吸取2.1中对照品溶液和供试液各2 μL,在同一硅胶G薄层板上点样,三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇(16:4:1)为展开剂,取出,吹干,再均匀喷上0.5%茚三酮溶液,150℃加热2 min,至斑点显色明显后,再置碘蒸气中熏至斑点清晰。见图1。在薄层板对叶百部碱斑点的相应位置上显相同颜色的斑点(为保证实验准确性,供试品平行点样3次)。



注:1~3. 供试品;4. 对照品。

图1 百部总生物碱缓释片的TLC图谱

2.2 百部总生物碱缓释片的含量测定

本文根据前期研究发现,百部总生物碱中对叶百部生物碱含量高且稳定,可以作为百部总生物碱的一个代表性含量检测指标,所以在接下来百部总生物碱缓释片含量及释放度测定中均以对叶百部碱为代表物进行检测。

2.2.1 液相色谱条件 色谱柱:Agilent Zorbax Extend-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.12%三乙胺溶液(40:60);流速:1.0 mL·min⁻¹;柱温:25℃;进样量:30 μL;ELSD参数:漂移管温度为97℃;空气流速为3 mL·min⁻¹。

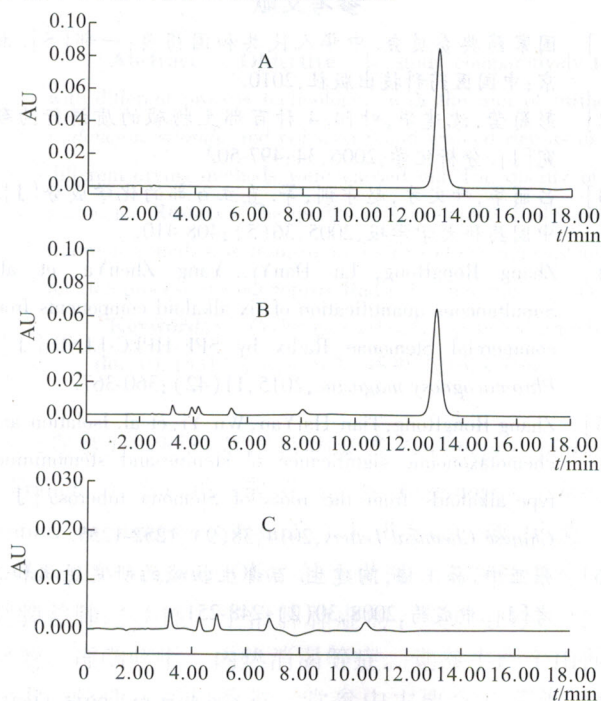
2.2.2 对照品及供试液的制备 对照品溶液的制备

精密称取对叶百部碱对照品适量,置于5 mL容量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,配制质量浓度为 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品储备液。

供试品溶液的制备:取10粒百部总生物碱缓释片,快速研匀后,精密称定1.0 g,加入50 mL 50%甲醇,超声溶解,过滤,滤饼用5 mL 50%甲醇洗涤,合并滤液和洗液并转移至已处理好的 C_{18} 固相萃取小柱中,先用5 mL水洗脱,再用5 mL甲醇洗脱。收集甲醇洗脱液,转移至25 mL的容量瓶,甲醇定容至刻度,精密量取甲醇溶液1.0 mL,至25 mL量瓶中,甲醇定容至刻度,过 $0.22 \mu\text{m}$ 的微孔滤膜即得供试品溶液。

阴性样品溶液的制备:按百部总生物碱缓释片的处方工艺,精密称取各辅料适量,按供试品溶液制备的方法制成阴性样品溶液。

2.2.3 方法学考察 专属性试验:取2.2.2项下对照品、供试品及阴性样品溶液各 $10 \mu\text{L}$,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱,见图2。结果表明,样品中的辅料成分对测定无干扰。



注: A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性样品。

图2 百部总生物碱缓释片的对照品、供试品、阴性样品高效液相色谱图

线性关系考察:精密称取对叶百部碱对照品适量,配置成质量浓度为 $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液,分别精密移取0.10、0.25、0.50、1.00、1.50 mL于10 mL量瓶中,加甲醇稀释至刻度,各精密吸取

上述溶液及2.2.2项下对照品溶液 $40 \mu\text{L}$,注入液相色谱仪中,测定,记录峰面积。对扫描积分值与进样浓度进行双对数直线回归处理,即以进样量的对数与峰面积积分值的对数作线性关系,得回归方程: $Y = 1.3802X + 5.7999 (r = 0.9997)$ 。可见,进样浓度在 $0.02 \sim 0.30 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 与积分值呈良好线性关系。

精密度试验:精密吸取对叶百部碱对照品溶液($0.2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) $30 \mu\text{L}$,连续进样5次,测得5次峰面积积分值,峰面积积分值平均值为39 379 682, $\text{RSD} = 1.40\%$,表明仪器精密度良好。

稳定性试验:精密吸取供试品溶液(批号:20141001) $30 \mu\text{L}$,分别于0、4、8、12、24 h进样测定,记录峰面积积分值,峰面积积分值平均值为38 958 241, $\text{RSD} = 1.20\%$,表明供试样品在24 h内稳定。

重复性试验:取样百部总生物碱缓释片(批号:20141001)6份测定,结果 $\text{RSD} = 1.08\%$,表明该方法的重复性良好。

加样回收试验:取百部总生物碱缓释片(批号:20141001)粉末6份,约0.5 g,精密称定,分别加入对叶百部碱60 mg,按供试品制备方法制备得供试品溶液,测定计算回收率。结果见表1。

表1 加样回收率结果($n=6$)

样 品	取样量 /g	添加对 叶百部 碱量 /mg	测出对 叶百部 碱量 /mg	实际检 测出的 添加量 /mg	加样 回收率 (%)	平均 回收率 (%)	RSD (%)
1	0.501 8	60.216	60.19	120.213	60.00	99.679	0.59
2	0.496 4	59.568	60.11	120.089	60.52	100.684	
3	0.505 4	60.648	60.38	120.512	59.86	99.145	
4	0.491 1	58.932	60.05	119.151	60.22	100.281	
5	0.500 1	60.012	59.99	119.708	59.70	99.510	
6	0.501 6	60.192	60.29	120.101	59.91	99.368	

含量测定:依2.2项下测定方法,对3批样品进行含量测定,结果见表2。

表2 对叶百部碱含量测定结果

编号	样品	对叶百部碱含量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
1	20141001	119.75
2	20141002	120.59
3	20141003	120.20

2.3 体外释放度测定方法与结果

取百部总生物碱缓释片6片,按《中华人民共

和国药典》2010年版(一部)释放度测定法,附录第一法(转篮法)操作,1.0%十二烷基硫酸钠溶液(SDS)800 mL作为释放介质,转速为 $100\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,温度为 $(37\pm0.5)^{\circ}\text{C}$,分别于2、4、6、8、10、12 h取样5 mL,30 s内用 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤,同时补充等体积的同温介质。精密移取续滤液4 mL于10 mL具塞试管中,挥干溶剂,加入60%乙醇适量,溶解后摇匀,定容至10 mL。照2.2项下测定方法测定对叶百部生物碱含量,以对叶百部生物碱为代表物进行检测,并按下式计算缓释片的累积释放度:

$$Q = C_n V_i + V_s \sum C_{n-1}$$

其中, Q 表示缓释片累积释放度; C_n 表示实测浓度; V_i 表示溶出介质体积; V_s 表示取样体积。

取3批百部总生物碱缓释片样品,测定在各时间点的体外释放度,结果见表3。

表3 3批样品的体外释放度测定结果(%)

批号	$Q_{2\text{ h}}$	$Q_{4\text{ h}}$	$Q_{6\text{ h}}$	$Q_{8\text{ h}}$	$Q_{10\text{ h}}$	$Q_{12\text{ h}}$
20141001	28.5	37.6	51.2	64.8	82.9	95.6
20141002	29.2	40.3	50.1	65.5	82.1	96.2
20141003	29.2	40.3	52.5	64.1	83.0	96.9

根据《中华人民共和国药典》有关规定,百部总生物碱缓释片在2、8、12 h的累积释放度分别为10%~30%、50%~70%、80%~100%。结果表明,3批百部总生物碱缓释片的释放度验证结果均较理想,12 h的累积释药量均达95%以上,且重复性好,方法稳定、可行,表明该缓释片能达到很好缓释效果。

3 讨论

3.1 体外释放度测定方法的选择

百部总生物碱缓释片的凝胶骨架材料易吸水膨胀并产生较大粘性,易粘于杯底,故采用转篮法进行测定。

3.2 方法评价

百部总生物碱的含量测定方法已有文献报道的有2个:溴甲酚绿显色法和雷氏盐比色法。由于比色法自身的灵敏度低,并且样品制备过程中操作复杂,导致这两种方法的测定结果并不准确。HPLC-ELSD是近年来检测百部样品比较理想的分析方法。实验建立了制剂中对叶百部碱的薄层色谱鉴别方法,以对叶百部碱含量为评价指标,采用SPE-HPLC-ELSD法建立百部总生物碱缓释片中对叶百部碱的含量测定方法。运用此分析方法测定了3批百部总生物碱缓释片中对叶百部碱的含量,平均质量分数为 $120.18\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。说明对叶百部碱在所测的3批缓释片中含量较为稳定,可以作为百部缓释片含量检测的一个代表性指标。同时运用此方法测定了百部总生物碱缓释片的体外释放度,说明该方法准确、简便、可靠,专属性、重复性好,可用于百部总生物碱缓释片的质量控制。

参考文献

- [1] 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.
- [2] 彭蜀莹,沈建华,叶阳. 4种百部生物碱的质谱行为研究[J]. 分析化学,2006,34:497-502.
- [3] 吕丽华,叶文才,赵守训,等. 直立百部的化学成分[J]. 中国药科大学学报,2005,36(5):408-410.
- [4] Zhang RongRong, Lu DanYi, Yang ZhenYa, et al. Simultaneous quantification of six alkaloid components from commercial *Stemona Radix* by SPE-HPLC-ELSD [J]. *Pharmacognosy magazine*,2015,11(42):360-367.
- [5] Zhang RongRong, Tian HaiYan, Wu Yi, et al. Isolation and chemotaxonomic significance of stenine-and stemoninine-type alkaloids from the roots of *Stemona tuberosa* [J]. *Chinese Chemical Letters*,2014,38(9):1252-1255.
- [6] 张亚中,薛玉梅,陶建生. 百部生物碱的研究现状和思考[J]. 中成药,2008,30(2):248-251.

(收稿日期 2015-11-25)