

冬凌草不同剂型及加工工艺对活性成分含量的影响研究

袁珂¹, 张晓明², 孙伟² (1. 浙江林学院食品与药学院, 浙江 临安 311300; 2. 河南宛西制药有限公司, 河南 西峡 474550)

摘要:目的 研究冬凌草不同剂型及加工工艺对活性成分含量的影响。方法 加工过程中始终采用常温及低温操作, 尽可能减少受热环节, 以确保活性成分不受破坏, 并采用 HPLC 测定不同制剂工艺熊果酸及冬凌草甲素的含量。结果 新制剂工艺比传统工艺能最大限度地保留活性成分, 使熊果酸、冬凌草甲素的转移率分别达到 54.62% 和 42.16%。结论 采用新剂型及新工艺加工冬凌草制剂, 与传统方法相比, 具有方法简便可行, 有效成分转移率较高, 含量易于控制等优点, 可供工业化生产参考。

关键词: 冬凌草; 熊果酸; 冬凌草甲素; 制剂工艺

中图分类号: R283.1 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2007)01-0012-03

Effects of Formulation and Technic on the Active Component Content of *Rabdosia rubescens*

YUAN Ke¹, ZHANG Xiaoming², SUN Wei² (1. College of Food and Pharmacy, Zhejiang Forestry University, Linan 311300, China; 2. Henan Pharmacy Company of Wanxi, Xixia 474550, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the effects of fomulation and technic on the active component content of *Rabdosia rubescens*. **METHODS** We operated at the nomal or lower temperature throughout the whole process of manufacturing for the sake of reducing the heat-getting links to ensure that the activated elements not be distroyed, meanwhile, we use HPLC to determine the content of ursolic acid and oridonin by different technology of phamaceutics. **RESULTS** Compared with the old technique, the new technology of phamaceutics can retain the active element to the maximum level, thus resulting in the transferring rate of 54.62% and 42.16% for ursolic acid and oridonin. **CONCLUSION** If we use the new fomulation and new technic to manufacture *Rabdosia rebescens* phamaceutics, We can benefit from operation, transferring rate and control of its content, etc. This can be referred to the industrial production.

KEY WORDS: *Rabdosia rubescens*; ursolic acid; oridonin; technology of phamaceutics

冬凌草为唇形科香茶菜属植物,主要分布于我国的河南、江苏、江西等地。对于冬凌草的研究与开发,20世纪70年代始于河南。大量的药理实验证明^[1-2],冬凌草中的有效成分具有很强的抗肿瘤活性,其抗肿瘤活性成分主要为熊果酸、冬凌草甲素等。

近几十年来人们已相继研制开发出了多种冬凌草制剂,如冬凌草糖浆、冬凌草片、冬凌草含片等。这些制剂一般具有清热解毒、抗菌消炎、消肿止痛的功效,主要用于治疗急性慢性咽喉炎、扁桃体炎等。目前国内就有几十家生产冬凌草制剂的企业。但由于技术上的原因,使其开发研制出的冬凌草制剂中的抗癌活性成分均被破坏掉了。我们曾对这些冬凌草制剂进行过质量检测,发现虽有些制剂含有熊果酸,但大多不含或含有很少量的冬凌草甲素,TLC也很少检出冬凌草甲素的特征斑点。究其原因,主要是生产工艺不合理,致使目前国内的冬凌草制剂的质量控制只能以熊果酸,而无法以冬凌草甲素作对照。作为冬凌草制剂的质量控制,应该说冬凌草甲素具有很强的专属性,而由于熊果酸在很多植物中都分布,因此以其作对照品专属性不强。我们围绕上述问题,对冬凌草制剂的剂型及加工工艺进行改进,以最大限度地保留活性成分。通过与传统剂型及加工工艺对比,结果表明熊果酸及冬凌草甲素的提出率和转移率大大提高。

1 仪器、试剂与材料

Agilent 1100型高效液相色谱仪(安捷伦公司);XWK-III无油无音空气泵(天津市分析仪器厂);Alltech(美国)ELSD2000)蒸发光散射检测器;自动进样器;HP1100化学工作站;真空薄膜浓缩装置^[3];R201B型旋转蒸发器(上海申胜生物技术有限公司);渗漉筒(120cm×8cm, I.D.),CS501型超级恒温水浴;熊果酸对照品(中国药品生物制品鉴定所提供,含量测定用);冬凌草甲素对照品(自制,经HPLC面积归一化法标定纯度为99.22%);色谱纯甲醇;双蒸水;其他试剂均为分析纯。

2 实验方法与结果

2.1 传统制剂工艺

传统的冬凌草制剂一般为冬凌草糖浆、冬凌草片。冬凌草糖浆的制剂工艺为:将冬凌草全草粉碎成粗粉,用水做溶剂进行煎煮提取。将提取液加热浓缩,过滤后加入稳定剂即得冬凌草糖浆。冬凌草片剂的制剂工艺^[4]为:将冬凌草全草粉碎成粗粉,用95%乙醇作溶剂进行回流提取。将提取液合并后浓缩至相对密度1.2g/mL,转移至烘箱中于100℃烘干。将干浸膏粉碎成细粉,与糊精混合后过80目筛,制成软材用14目制粒,干燥。将干燥颗粒过10目筛整粒,加入硬脂酸镁混合,压片,包衣。

2.2 新制剂工艺

滴丸是近几十年来发展起来的新剂型,由于其具有崩解速度快、生物利用率高、药效快、外形雅致、易于服用、便于贮存和携带等优点,越来越受到消费者的欢迎,现已广泛用于医药、保健品、化妆品等领域。滴丸属于固体分散体,当选用水溶性基质时,往往使脂溶性成分溶出度增加,有利于吸收,

从而提高生物利用度。冬凌草中的有效成分熊果酸、冬凌草甲素等均为脂溶性成分,在水中溶解度很小。为了增加其在体内的溶出度和生物利用度,并提高产品中有效成分的含量,作者将片剂及糖浆剂改为滴丸剂型,并将制备工艺进行了改进。其改进的制备工艺为:将冬凌草全草粉碎成粗粉,用95%的乙醇为溶剂进行冷浸提取。抽滤,合并提取液,进行低温减压浓缩至适量,加活性炭室温超声脱色除杂。抽滤,除去活性炭后继续真空浓缩至一定密度的浓缩液。通过柱色谱进行分离纯化。将收集的洗脱液减压浓缩成膏状,加入合适比例的水溶性基质PEG-4000,滴制成丸。

2.3 色谱条件

色谱柱为ODS-C₁₈柱(4.6mm×150mm)。流动相A(熊果酸):甲醇-0.4%冰醋酸(80:20),柱温40℃,流速0.8mL/min;流动相B(冬凌草甲素):甲醇-水(55:45),柱温:25℃,流速0.6mL/min。

2.4 标准曲线的绘制

精密称取熊果酸对照品2.77mg,置于25mL量瓶中,加甲醇定容至刻度得到110.8μg/mL的对照品溶液。分别进样熊果酸对照品溶液2.0,5.0,10.0,15.0,20.0μL,记录峰面积。以熊果酸进样质量的自然对数为横坐标,峰面积的自然对数为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程 $Y=1.0155175X-0.0299316$, $r=0.99971$ 。结果表明熊果酸在0.2216~2.216μg范围内线性关系良好。

精密称取冬凌草甲素对照品10.00mg,加甲醇定容至25mL量瓶中,得到浓度为400μg/mL的对照品溶液。分别进样冬凌草甲素对照品溶液0.2,0.4,1.0,2.0,3.0,4.0,5.0,6.0,7.0,8.0μL,记录峰面积,结果冬凌草甲素进样量在0.08~1.32μg之间,峰面积与冬凌草甲素进样量呈良好线性关系,回归方程: $Y=1464.41036X+30.61838$, $r=0.99997$ 。

2.5 样品溶液的制备与测定

精密称取冬凌草药材粗粉5g,置锥形瓶中,加入10倍量甲醇超声提取两次,每次30min。抽滤,合并提取液,用甲醇定容至250mL量瓶中,得到冬凌草药材提取液。

精密量取冬凌草糖浆5mL,置锥形瓶中,加入50mL蒸馏水超声溶解。放冷后过滤,转移至100mL量瓶中用蒸馏水定容至刻度,得到冬凌草糖浆样品溶液。

精密称取冬凌草片5片,研细后置锥形瓶中,加50mL甲醇超声溶解。放冷后过滤,转移至100mL量瓶中用甲醇定容至刻度,得到冬凌草片样品溶液。

精密称取冬凌草滴丸20丸,研细后置锥形瓶中,加50mL甲醇超声溶解。放冷后过滤,转移至100mL量瓶中用甲醇定容至刻度,得到冬凌草滴丸样品溶液。

测定时,分别精密吸取上述溶液各2mL,分别置25mL量瓶中,用甲醇稀释至刻度。测定时分别吸取5μL进样,记录峰面积,计算熊果酸及冬凌草甲素的含量,见表1。

3 讨论

3.1 冬凌草中的有效成分熊果酸、冬凌草甲素均为脂溶性、热敏性成分,传统法中的水提提取率较低,且高温浓缩会导

表 1 不同剂型及加工工艺活性成分的含量比较

Tab 1 The comparison on the content of active component by different fomulation and technic

样品	熊果酸的 平均含量 /%	RSD /%	熊果酸的 的转移率 /%	冬凌草甲素的 平均含量 /%	RSD /%	冬凌草甲素 的转移率 /%
冬凌草药材	0.50217	1.56		0.57321	2.34	
冬凌草糖浆	—	—	—	—	—	—
冬凌草片	0.18432	1.85	16.28	0.05632	2.92	2.64
冬凌草滴丸	3.16841	2.24	54.62	3.06127	2.65	42.16

致这些热不稳定成分的破坏;而回流提取由于需长时间加热提取,也会造成有效成分大量破坏,且在浓缩成膏、高温烘干等操作中均需加热处理,受热环节较多,使热敏性成分破坏严重,造成有效成分熊果酸、冬凌草甲素的转移率极低,在TLC板上几乎检测不出熊果酸及冬凌草甲素的特征斑点。而新工艺均克服了这些弊端。新工艺采用室温冷浸提取、真空薄膜浓缩、超声脱色、柱色谱分离纯化、减压浓缩成膏,加入基质制成剂型。由于从原料到成品始终都采用室温及低温操作,最大限度地保护热敏性成分不受破坏,大大提高了有效成分的转移率。

3.2 选择滴丸剂型能增大脂溶性成分的溶出速度,提高生物利用度。但由于这种剂型的载药量有限,因此在改进工艺中增加柱色谱分离纯化这一步,其目的是提高滴丸中有效成分的含量,减少服用量。为增大载药量及避免氧化,建议还可将冬凌草制剂的剂型改为软胶囊。软胶囊是一个气密性的单元,外壳是含有明胶和甘油的胶囊壳,胶囊壳具有一定的强度和韧性。这种剂型与其他剂型药品相比,气密性的胶壳可保护内部产品不被空气氧化,并具有更长的有效期和储存期。

3.3 传统制剂工艺与新制剂工艺相比,产品中有效成分的含量相差甚大。经TLC检视,糖浆剂中无熊果酸及冬凌草甲素特征斑点出现,片剂中熊果酸及冬凌草甲素特征斑点不明

显,而滴丸中熊果酸及冬凌草甲素斑点清晰。经HPLC测定可知,三种样品中,糖浆剂的HPLC谱图中不显示熊果酸及冬凌草甲素的特征峰,说明产品中已不存在有效成分,片剂中能显示出熊果酸的特征峰,但几乎看不到冬凌草甲素的特征峰,而滴丸中熊果酸及冬凌草甲素的特征峰明显,含量比片剂中高出许多,转移率较高,且专属性强,可作为冬凌草制剂的质量控制标准。

参考文献

[1] LIU C J, ZHAO Z H. Advances in research of *Rabdosia rubescens* [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 1998, 33 (10): 577-581.

[2] HUANG J, SUN Y. The antitumor activity of ursolic acid[J]. J Chin Nw Drugs (中国新药杂志), 1997, 6 (2): 101-105.

[3] YUAN K, YU L. Development and application of reduced pressure concentration device[J]. Chin J Anal Chem (分析化学), 2005, 33 (9): 1358-1360.

[4] JI C R, YUAN K, HU R H, *et al.* Research for effect of the content of oridonin in compound *rabdosia rubescens* buccal tablets by different preparation processes [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 1999, 21 (12): 620-622.