

文章编号: 1004-4353(2016)01-0091-04

林蛙油平贝母软胶囊制剂及质量标准研究

王冬雪¹, 金成山¹, 金莉莉¹, 于晓龙², 郭建鹏^{1*}

(1. 延边大学药学院, 吉林 延吉 133002; 2. 青岛黄海制药有限公司, 山东 青岛 266001)

摘要: 采用单因素平行试验与正交设计试验,以基质吸附率和沉降体积比为考察指标,将林蛙油与平贝母制成保健食品软胶囊,优选软胶囊内容物制剂. 优选后的内容物制剂为:原料细粉与大豆油比例为 1 : 1.5,蜂蜡为 1.5%,吐温-80 为 0.5%,内容物为假塑性流体. 采用酸性染料比色法测定总生物碱的含量,高效液相(HPLC)测定 1-甲基海因含量,并以总生物碱和 1-甲基海因的含量建立主要药效学成份的质量标准. 经测定 3 批样品中总生物碱的平均含量为 $17.61\text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$,1-甲基海因的平均含量为 $8.56\text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$. 检测表明,本文所制软胶囊的质量符合规定.

关键词: 沉降体积比; 流变学性质; 重新分散性; 总生物碱; 1-甲基海因

中图分类号: R283.6 **文献标识码:** A

Peparations and its quality standard of the *Ranae Oviductus* and *Fritillaria Ussuriensis* soft capsules

WANG Dongxue¹, JIN Chengshan¹, JIN Lili¹, YU Xiaolong², GUO Jianpeng^{1*}

(1. College of Pharmacy, Yanbian University, Yanji 133002, China;

2. Qingdao Huanghai Pharmaceutical Co., Ltd., Qingdao 266001, China)

Abstract: By using single-factor parallel experimental and orthogonal test, with the base adsorption and sedimentation ratio as the evaluation indexes, a type of soft capsule which is health food made from *Ranae Oviductus* and *Fritillaria Ussuriensis*, the content preparation of soft capsule is optimized. The optimized contents consist of the raw material powder and soybean oil in ratio of 1 : 1.5, 1.5% beeswax and 0.5% Tween-80, furthermore, the content is pseudo-plastic fluid. The content of the total alkaloids is determined by acid dye colorimetric method and the 1-methyl hydantoin is determined by the high performance liquid chromatography (HPLC) method. Quality standards of main pharmacodynamic component based on the content of the total alkaloids and 1-methyl hydantoin is established. In three batches of samples, the average content of total alkaloids is $17.61\text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$, 1-methyl hydantoin is $8.56\text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$. The quality of prepared soft capsule accords with the regulations.

Keywords: sedimentation ratio; rheological properties; redispersion; total alkaloids; 1-methyl hydantoin

0 引言

平贝母(*Fritillaria ussuriensis* Maxim)为百合科贝母属多年生草本植物平贝母的干燥鳞茎,主要含有生物碱类成分^[1-2],具有较显著的止咳、祛痰、平喘、抗溃疡、抗血小板聚集、抗炎等多种药理作

用^[3-4],目前在长白山区域有人工栽培基地. 林蛙油(*Ranae oviductus*)又名哈蟆油,为蛙科动物中国林蛙(*Rana temporaria chensinensis* David)雌蛙的输卵管,经采制干燥而得,为长白山道地药材之一. 林蛙油含有丰富的营养物质,如雌醇、孕酮、睾酮

等多种生物活性物质、不饱和脂肪酸、维生素及微量元素等^[5-6],其主要活性成分之一为 1-甲基海因^[7].本研究以林蛙油与平贝母为主要原料制备软胶囊制剂,并建立制剂的质量标准.

1 材料和方法

1.1 原料和仪器

原料林蛙油和平贝母产自吉林省敦化市,经延边大学药学院吕惠子副教授鉴定;植物油为药用级别,水为双重蒸馏水,其他液体试剂均为分析纯,固体制剂为化学纯.

仪器有:高效液相色谱仪(LC-10ATVP,岛津公司);紫外-可见分光光度计(UV-2201,岛津公司);片剂四用测定仪(SY-2D,上海黄海药检仪器有限公司);数字式黏度计(RVDV-2,上海精天电子仪器有限公司).

1.2 内容物中总生物碱的含量测定方法

1.2.1 溶液的配制 缓冲溶液:取 0.2 mol/L 邻苯二甲酸氢钾溶 100 mL(4.08 g),用 0.2 mol/L 氢氧化钠溶液约 50 mL(0.4 g)调节 pH 值为 5.0. 溴百里香酚蓝溶液:称取 0.03 g 溴百里香酚蓝,溶于 0.5 mL 的 1 mol/L 氢氧化钠溶液中,加蒸馏水稀释至 100 mL,摇匀. 对照品溶液:精密称取贝母素甲对照品 2.55 mg,用氯仿定容于 25 mL 容量瓶中. 供试品溶液:取软胶囊内容物适量(相当于平贝母原药材 1.00 g),置具塞锥形瓶中,加浓氨水 3 mL,浸润 1 h 后加氯仿-甲醇(体积比为 4:1)混合溶液 40 mL,置 80 ℃ 水浴加热回流 2 h,放冷,滤过,用适量氯仿-甲醇(体积比为 4:1)混合溶液洗涤药渣 2~3 次,洗液与滤液合并后蒸干,残渣加氯仿使溶解,定容于 25 mL 量瓶,摇匀.

1.2.2 检测波长的确定 精密吸取贝母素甲对照品溶液 4.0 mL 至 25 mL 容量瓶中,加 5 mL pH=5 的缓冲液和 2 mL 溴百里香酚蓝溶液,再加氯仿定容,充分摇匀后移入分液漏斗中,放置 45 min. 取氯仿层(下层液)用干燥滤纸过滤,取滤液,用氯仿调空白,于紫外可见分光光度计 350~500 nm 处测定吸光度.

1.3 内容物中 1-甲基海因的含量测定方法

1.3.1 色谱条件 色谱柱为 Diamondsil ODS 柱(5 μm, 250 mm×4.6 mm),检测波长为 215 nm,

流动相为甲醇-水(体积比为 10:90),流速为 0.5 mL/min,柱温为 25 ℃,进样量为 10 μL.

1.3.2 溶液的配制 对照品溶液:精密称取 1-甲基海因对照品,加水制成每 1 mL 含 2 μg 的溶液. 供试品溶液:取软胶囊内容物适量(相当于林蛙油粉末 2 g),加氯仿 40 mL,加热回流 30 min,放冷,滤过,同法提取 3 次;合并滤液,蒸干,残渣加水 5 mL 使溶解,摇匀,放置 12 h.

2 结果与讨论

2.1 制剂研究

2.1.1 内容物基质的筛选 取 3 种基质适量,分别加入原料细粉适量,混合均匀后测定沉降体积比 *F* 值,结果见表 1. 表 1 表明,选用大豆油为分散基质时,内容物混悬液的沉降稳定性高.

表 1 不同种类基质混悬液的 *F* 值($\bar{x}\pm SD, n=3$)

植物油	<i>F</i> 值			沉降面外观
	20 min	40 min	60 min	
花生油	0.53±0.07	0.52±0.06	0.50±0.06	清晰
玉米油	0.50±0.07	0.50±0.04	0.50±0.07	清晰
大豆油	未见沉降	0.98±0.05	0.92±0.08	模糊

2.1.2 内容物细粉适宜粒径的确定 取大豆油适量,分别加入筛分粒径为 A(-0.180 mm, +0.154 mm)、B(-0.154 mm, +0.150 mm)和 C(-0.150 mm, +0.100 mm)的原料细粉适量,振荡,混合均匀后测定不同时间段的 *F* 值和完全沉降所需时间,以此考察不同粒径细粉混悬液的沉降稳定性,结果见表 2. 表 2 表明:当细粉筛分粒径为 A 时的 *F* 值和完全沉降所需时间与粒径为 B、C 时的 *F* 值和完全沉降所需时间均有显著差异;当细粉筛分粒径为 B 和 C 时,*F* 值和完全沉降所需时间均无显著差异. 这表明在筛分粒径达到 B 时,粒径对混悬液沉降稳定性已无显著影响,故确定细粉筛分粒径为 B.

表 2 不同粒径原料混悬液的沉降稳定性($\bar{x}\pm SD, n=3$)

粉末筛分 粒径	<i>F</i> 值				完全沉降 时间/min
	20 min	40 min	60 min	80 min	
A	0.71±0.03	0.54±0.06	0.25±0.04	0.25±0.03	60
B	0.90±0.07	0.83±0.01	0.80±0.05	0.77±0.08	300
C	0.91±0.02	0.83±0.02	0.81±0.09	0.77±0.02	300

2.1.3 助悬剂的筛选 取大豆油适量,分别加入 1%单硬脂酸甘油酯和 1%蜂蜡作为助悬剂,然后再分别加入适量的原料细粉,混合均匀后测定 F 值,以此考察不同种类助悬剂对混悬液稳定性的影响,结果见表 3。表 3 表明,以蜂蜡作为助悬剂的混悬液的稳定性好。

表 3 不同种类助悬剂对混悬液稳定性的影响($\bar{x} \pm SD, n=3$)

助悬剂 种类	F 值			
	20 min	40 min	60 min	80 min
单硬脂酸甘油酯	0.90±0.05	0.76±0.08	0.66±0.09	0.59±0.03
蜂蜡	未见沉降	0.98±0.02	0.97±0.07	0.96±0.05

2.1.4 润湿剂的筛选 取大豆油适量,加入 1%蜂蜡,然后再分别加入 1%的吐温-80 和司盘-80,混合均匀后混合液中分别加入适量的原料细粉,混合均匀后测定 F 值,以此考察不同种类润湿剂对混悬液稳定性的影响,结果见表 4。表 4 表明,加入润湿剂后细粉的沉降速率减慢,分布均匀,且吐温-80 组的 F 值相对高,故确定其为润湿剂。

表 4 不同种类润湿剂对混悬液稳定性的影响($\bar{x} \pm SD, n=3$)

润湿剂 种类	F 值			混悬液中细粉 分布状态
	20 min	40 min	60 min	
吐温-80	未见沉降	0.99±0.01	0.98±0.02	均匀
司盘-80	未见沉降	0.98±0.02	0.90±0.05	均匀

2.1.5 制剂配比优选 以 F 值为考察指标,以原料细粉与基质比例(A)、助悬剂用量(B)以及润湿剂用量(C)为因素,采用 $L_9(3^3)$ 正交设计试验,优选制剂原辅料配比,确定最佳制剂。实验方案及结果见表 5,方差分析见表 6。由实验结果可知,因素 A、B、C 对 F 值均无显著性影响,各因素作用的主次为 $B>C>A$ 。考虑实际生产及服用剂量,本文确定最佳组合为 $A_1B_3C_1$,即原料细粉与基质比例为 1:1.50,助悬剂用量为 1.5%,润湿剂用量为 0.5%。

2.1.6 验证试验 精密称取原料细粉 3 份,按照优选制剂 $A_1B_3C_1$ 制备内容物,测定 F 值。 F 值分别为 0.979,0.958,0.959,相对标准偏差(RSD)为 1.23%,这表明优化后的制剂合理。

表 5 正交试验及结果				
试验号	A	B/%	C/%	F 值
1	1:1.75	0.5	1.0	0.814
2	1:2.0	0.5	1.5	0.678
3	1:1.5	1.5	1.0	0.957
4	1:1.75	1.5	1.5	0.944
5	1:1.5	0.5	0.5	0.854
6	1:1.75	1.0	0.5	0.925
7	1:1.5	1.0	1.5	0.816
8	1:2.0	1.5	0.5	0.967
9	1:2.0	1.0	1.0	0.883

表 6 正交试验方差分析结果					
方差来源	离差平方和	自由度	均方差	F 值	P 值
A	0.004	2	0.002	1.602	0.384
B	0.045	2	0.023	17.754	0.053
C	0.017	2	0.008	6.502	0.133
误差	0.003	2	0.001		

2.1.7 内容物流变学性质测定 流变学性质是软胶囊内容物的重要参数之一。根据测定的不同剪切速率下的内容物表观黏度值绘制流变学曲线,如图 1 所示。图 1 表明,该内容物为假塑性流体。

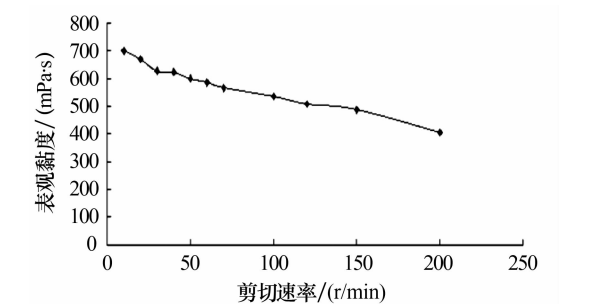


图 1 混悬液表观黏度与剪切速率的关系

2.2 软胶囊质量标准研究

本制剂是由林蛙油和平贝母 2 种药材组成,林蛙油中主要药效学成分为 1-甲基海因,平贝母中主要药效学成分为总生物碱,因此本文就 1-甲基海因和总生物碱的含量进行测定,并以此初步建立软胶囊的质量标准。

2.2.1 总生物碱含量 采用酸性染料比色法对软胶囊中总生物碱的含量进行测定。由于对照品溶液在 408~412 nm 处有最大吸收,故选择 410 nm 作为测定波长。以贝母素甲的含量与吸光度值进行线性回归,得回归方程 $Y=0.0424X+0.1454$, $r=0.9908$ ($n=6$)。贝母素甲在 4.08~

20.40 $\mu\text{g/mL}$ 范围内,含量与吸光度值间线性关系良好.经测定,3 批样品中总生物碱的含量分别为 17.33、17.67 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 17.83 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,其平均含量为 17.61 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$.

2.2.2 1-甲基海因的含量 采用反相高效液相(RP-HPLC)法对软胶囊中 1-甲基海因的含量进行测定^[10-11].以进样量与峰面积进行线性回归,得回归方程 $Y=8\,143X+359.8$, $r=0.999\,8$ ($n=5$).1-甲基海因在 0.4~1.0 $\mu\text{g/mL}$ 范围内进样量与峰面积间线性关系良好.经测定,3 批样品中 1-甲基海因的含量分别为 8.47、8.35 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 8.86 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,其平均含量为 8.56 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$.

2.3 检查

1) 装量差异检查.取所制备软胶囊 10 粒,经精密测定,其平均装量为 0.5 g,所有胶囊装量均在 0.45~0.55 g 范围内,这表明装量差异符合规定.

2) 崩解时限检查.取所制备软胶囊 6 粒,置于 $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ 的人工胃液中进行检查,其崩解时间均在 20 min 以内,这表明所制备软胶囊崩解时限符合规定^[9].

3) 重新分散性检查^[8].取软胶囊内容物置于 100 mL 具塞量筒内,静置 14 d 后以 20 r/min 速度转动,经 2 min 后,量筒底部的沉降物消失,重新均匀分散.

3 结论

本文用植物油为基质,林蛙油和平贝母提取物为原料,将基质与原料结合为混悬剂作为软胶囊内容物.经采用沉降体积比、重新分散性、流变学特性等方法检测,将内容物处方确定为:原料细粉与大豆油比例为 1:1.50;蜂蜡为助悬剂,用量为 1.5%;吐温-80 为润湿剂,用量为 0.5%.验证试验结果表明,制剂优化成功.流变学和重新分散

性测定结果表明,制剂内容物为假塑性流体,稳定性和分散性良好.经检测,3 批样品中总生物碱的平均含量为 17.61 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,1-甲基海因的平均含量为 8.56 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$.本文所建立的质量标准重复性好,可用于制剂质量控制.本实验结果可为林蛙油平贝母软胶囊制剂的进一步研究与开发利用提供科学依据.

参考文献:

- [1] 张爱武,王丽杰,钱丽丽.平贝母中总生物碱含量的测定[J].黑龙江八一农垦大学学报,2007,19(6):62-66.
- [2] 卢敏玲,曾丽翹,林艳英,等.中药平贝母的研究进展[J].轻工科技,2014(4):26-28.
- [3] 叶耀辉,贺瑾,应亚宾,等.贝母生物碱提取分离方法的研究进展[J].赣南医学院学报,2013,33(4):629-634.
- [4] 王振月,马微微,蔡妙婷,等.不同生长期栽培及野生平贝母的总生物碱分布[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(9):118-120.
- [5] 王丹彤,王丹辉.林蛙油化学成分及药理作用研究[J].长春中医药大学学报,2015,31(6):1127-1129.
- [6] 李宜平,刘海艳,张晋纲,等.六味雪哈片对老龄大鼠抗衰老作用的研究[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(12):255-256.
- [7] 常乐,刘汶,张琳.哈蟆油的研究进展[J].沈阳药科大学学报,2011,28(5):405-408.
- [8] 平其能,屠锡德,张钧寿,等.药剂学[M].4 版.北京:人民卫生出版社,2013:331.
- [9] 中华人民共和国国家药典委员会.中华人民共和国药典:4 部[S].北京:中国医药科技出版社,2015:通则 0103.
- [10] 陈冰,王诗涵,徐阳,等.HPLC 法测定脱脂林蛙油胶囊中 1-甲基海因的含量[J].黑龙江畜牧兽医,2014(5):196-198.
- [11] 王永生,张辉,林喆,等.RP-HPLC 测定哈蟆油中 1-甲基海因的含量[J].中国药学杂志,2008,43(2):146-148.