

穿心莲注射液制备工艺过程中 3 种穿心莲内酯含量变化追踪

路新华¹, 龙晓英^{1*}, 罗佳波², 谭晓梅², 崔梦飞¹

(1. 广东药学院中药学院, 广州 510006;
2. 南方医科大学中医药学院 广东省中药制剂重点实验室, 广州 510515)

[摘要] **目的:**通过研究穿心莲注射液工艺过程中穿心莲内酯、新穿心莲内酯以及脱水穿心莲内酯含量的动态变化来加强穿心莲注射液的质量控制。**方法:**模拟穿心莲注射液生产工艺,并从中选取 6 个关键工艺作为监控点,利用 UV-HPLC 对其进行在线质量监测,追踪穿心莲内酯、新穿心莲内酯以及脱水穿心莲内酯含量的动态变化,计算转移率。**结果:**穿心莲内酯、新穿心莲内酯以及脱水穿心莲内酯在整个生产工艺中总的转移率不同,总的转移率分别是 56.3%、74.0%、42.5%;3 种内酯在不同的生产工艺转移率亦不同,在活性炭回流脱色工艺中的损失最为严重,总内酯类成分转移率仅为 75.2%。**结论:**将穿心莲注射液的质量控制由从药材、中间体、制剂的静态控制变为对工艺过程的动态监控全方位的控制,可更准确地分析可能存在质量问题的环节,为相关生产企业实际生产提供参考,并为提高穿心莲注射液乃至中药注射剂的质量可控性奠定基础,具有较高的参考价值。

[关键词] 穿心莲注射液; 穿心莲内酯; 新穿心莲内酯; 脱水穿心莲内酯
[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)09-0043-04
[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014090043
[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13422/j.cnki.syfjx.000064.html>
[网络出版时间] 2014-02-25 13:45

Track the Content Change of Three Kinds of Lactones in the Process of Chuanxinlian Injection

LU Xin-hua¹, LONG Xiao-ying^{1*}, LUO Jia-bo², TAN Xiao-mei², CUI Meng-fei¹

(1. School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China;
2. School of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

[Abstract] **Objective:** To strength the quality control method of Chuanxinlian injection by determining the content of andrographolide, neoandrographolide and dehydroandrographolide in the process of production. **Method:** Adopt UV-HPLC to track the dynamic variation of andrographolide, neoandrographolide and dehydroandrographolide in six key process steps, which were picked up from Chuanxinlian injection production process. And metastasis rate of 3 kinds of lactones were analyzed. **Result:** During the production, the metastasis rate of Andrographolide, neoandrographolide and dehydroandrographolide is different. It is 56.3%, 74.0% and 42.5% respectively. The metastasis rate of three kinds of lactones in different production process is different. The loss in the progress of decolorization activated carbon is most serious. And the metastasis rate of three kinds of lactones is only 75.2%. **Conclusion:** This research may give a mind of Chuanxinlian injection quality control change from static control to dynamic control. And a great number of possible quality problems in the process of production may be analyzed and summarized more accurate. It provides a solid scientific experimental basis for

[收稿日期] 20130816(005)
[基金项目] 广东省产学研重大专项(2010A090200076)
[第一作者] 路新华, 硕士, 研究生, 从事中药制剂研究与开发, Tel:13560214620, E-mail:kuailebaobei.lxh@163.com
[通讯作者] * 龙晓英, 博士, 教授, 从事药物制剂新技术与新剂型的研究与开发, Tel:020-39352559, E-mail:longxy3156@163.com

practical production of Chuanxinlian injection and feasible recommendations for related manufacturing enterprises. Therefore, this paper could offer a new thought for quality control of Chuanxinlian injection even traditional Chinese medicine injections.

[Key words] Chuanxinlian injection; andrographolide; neoandrographolide; dehydroandrographolide

穿心莲注射液具有清热解毒的功效,用于咽喉肿痛、肺热咳嗽、热痢,亦用于上呼吸道感染、细菌性痢疾等^[1],使用范围较广。但由于产地、采摘季节等原因,穿心莲药材本身存在较大差异^[2];加之生产工艺较多,均可能造成产品质量的不稳定^[3],导致不良反应的发生。因此加强质量控制力度,是提高其质量稳定性的有效措施之一。本文拟以穿心莲注射液生产工艺为目标,采用 HPLC 跟踪其有效成分穿心莲内酯(andrographolide, A)、新穿心莲内酯(neoandrographolide, NA)以及脱水穿心莲内酯(dehydroandrographolide, DDA)在各工艺步骤中的转移率,提出建议,为提高穿心莲注射液的可控性提供试验依据。

1 仪器与试剂

Waters 高效液相色谱系统(1525 二元泵,2489 紫外检测器,2707 自动进样器,Breeze 2 液相色谱工作站,在线脱气机),穿心莲内酯(批号 110797-201108)、脱水穿心莲内酯对照品(批号 110854-201007)购自中国食品药品检定研究院,新穿心莲内酯对照品(纯度≥98%,成都曼斯特生物科技有限公司,批号 MUST-11082301),乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯,屈臣氏蒸馏水(广州屈臣氏食品饮料公司),聚山梨醇-80(天津市大茂化学试剂厂),药用活性炭(溧阳市华东活性炭公司),穿心莲叶、穿心莲浸膏、穿心莲注射液(均由丽珠集团利民制药厂提供,批号分别为 120101, 111201, 111202)。

2 方法与结果

2.1 供试样品的配制

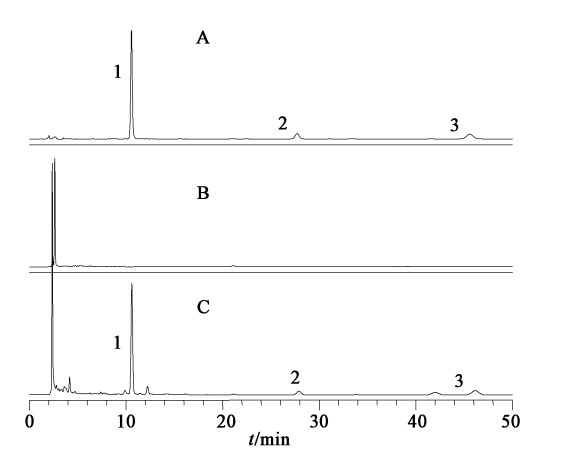
2.1.1 生产流程及检测点确定 根据对穿心莲注射液整个生产流程的初步考察,选择对其中有效成分 A,NA 及 DDA 转移率的影响较大的 6 个关键工艺作为主要监控点,它们分别是:称取适量穿心莲药材,90% 乙醇热浸回流 3 次,4 h/次,合并 3 次浸提液(监控点 1);回收乙醇至一定体积,室温静置 24 h,过滤(监控点 2);加入活性炭,回流 30 min,室温放置过夜,过滤(监控点 3);回收乙醇至无醇味得流浸膏。注射液的配制为向流浸膏中加入少量 95% 乙醇,55 ~ 60 °C 加热溶解,加入处方量一半的聚山

梨醇-80 和热注射液用水,煮沸,冷却后加入适量活性炭,煮沸 30 min,冷藏过夜(监控点 4);补充聚山梨醇-80 及注射用水至全量,8% ~ 10% 的氢氧化钠溶液调节至 pH 7.0(监控点 5);0.45 μm 微孔滤膜过滤,灌封,100 °C 灭菌 30 min(监控点 6),即穿心莲注射液。

2.1.2 样品溶液的制备 按 2.2.1 项下,分别在 6 个监控点处进行取样,于 55 °C 水浴条件下蒸干,60% 甲醇溶解定容到适合的体积,0.22 μm 微孔滤膜过滤,样品溶液依次编号为 1,2,3,4,5,6,备用。

2.2 方法学考察

2.2.1 色谱条件 SunFire C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm),流动相乙腈-水(30:70),流速 1.0 mL · min⁻¹,柱温 35 °C,双波长检测 225 nm。按照上述色谱条件进行方法学考察,结果见图 1。图中显示 A,NA, DDA 峰得到很好的分离,待测组分与相邻组分分离度均 > 1.5,各成分理论塔板数 > 3 000,分离度良好。



A. 对照品; B. 空白; C. 样品; 1. A; 2. NA; 3. DDA
图 1 穿心莲含量测定 HPLC

2.2.2 线性关系考察 精密称取 A, DDA, NA 对照品适量,分别用甲醇使之溶解并定容 5 mL。精密吸取不同体积的储备液加甲醇稀释为 111.1, 61.8, 30.0 mg · L⁻¹ 的 A, NA 和 DDA 系列对照液;按 2.1.1 项所述色谱条件进行测定,进样体积分别为 1, 2, 4, 8, 12, 16, 20 μL,记录峰面积,以色谱峰面积为纵坐标(Y),对照浓度为横坐标(X),计算标准曲线方程,其线性范围为各内酯的进样量,见表 1。

表 1 线性范围、回归方程和相关系数($n=7$)			
测定成分	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot 10^{-3}$	回归方程	r
A	0.111~2.222	$Y=21\,375X-148\,919$	0.999 9
NA	0.062~1.235	$Y=4\,396X-20\,943$	0.999 9
DDA	0.030~0.599	$Y=15\,193X-29\,499$	0.999 7

2.2.3 精密度考察 取对照品溶液按**2.2.1**项下色谱条件,连续进样6次,记录色谱峰面积。A、DDA和NA峰面积的RSD分别为1.0%,1.4%,1.4%。试验表明,该仪器的精密度良好。

2.2.4 重复性考察 按**2.1**项下步骤重复制备监控点1处样品溶液6份,并按**2.2.1**项下色谱条件,分别进行测定,记录色谱峰面积。A、DDA和NA峰面积的RSD分别为1.8%,2.0%,2.1%。试验表明,该方法的重复性良好。

2.2.5 稳定性考察 按**2.1**项下步骤制备监控点1处样品溶液1份,并按**2.2.1**项下色谱条件,分别于0,2,4,8,12,24 h进行测定,记录色谱峰面积。A、DDA和NA峰面积的RSD分别为0.8%,1.7%,0.9%。试验表明,该样品溶液在24 h内稳定性良好。

2.2.6 加样回收率的测定 按**2.1**项下步骤制备监控点1处样品溶液6份,每份1 mL,分别精密加入3种对照品溶液,制备样品溶液,按**2.2.1**项下色谱条件,分别进行测定,记录各色谱峰面积,计算平均回收率,结果见表2。结果表明,该方法准确度良好。

2.3 样品的含量测定 按**2.2.1**项下色谱条件,设

表 2 3种成分的加样回收率					
测定成分	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	平均值 /%	RSD /%
A	0.294	0.278	0.582	103.0	0.9
	0.300	0.278	0.586		
	0.290	0.278	0.576		
	0.295	0.278	0.576		
	0.289	0.278	0.578		
NA	0.288	0.278	0.576	100.7	1.8
	0.121	0.154	0.276		
	0.119	0.154	0.278		
	0.118	0.154	0.276		
	0.118	0.154	0.27		
DDA	0.116	0.154	0.271	104.3	1.2
	0.116	0.154	0.270		
	0.079	0.075	0.158		
	0.079	0.075	0.158		
	0.078	0.075	0.157		
	0.078	0.075	0.157		
	0.078	0.075	0.156		
	0.076	0.075	0.153		

定进样体积为10 μL ,分别对6个监控点的样品溶液进行测定,记录各色谱峰面积。测定结果见表3。

将实验室制备的3批穿心莲药材、穿心莲浸膏以及穿心莲注射液与企业生产的3批穿心莲药材、穿心莲浸膏以及穿心莲注射液中相关指标成分进行对比,具体结果见表4。

表 3 各监控点处3种成分的含量及转移率($\bar{x}\pm s,n=3$)								
监控点编号	A 的量 /mg	A 的转移率 /%	NA 的量 /mg	NA 的 转移率/%	DDA 的量 /mg	DDA 的 转移率/%	3 内酯的总量 /mg	3 内酯的 总转移率/%
1	487.6 $\pm$ 12.7	—	153.7 $\pm$ 2.5	—	136.4 $\pm$ 2.0	—	899.5 $\pm$ 17.3	—
2	449.8 $\pm$ 18.1	92.2	164.7 $\pm$ 4.6	107.1	127.7 $\pm$ 0.9	93.6	854.9 $\pm$ 17.8	95.4
3	348.4 $\pm$ 12.2	77.5	119.1 $\pm$ 5.1	72.3	90.4 $\pm$ 3.0	70.8	644.9 $\pm$ 11.1	75.2
4	322.2 $\pm$ 9.1	92.5	115.0 $\pm$ 5.0	96.6	66.3 $\pm$ 3.8	73.3	584.0 $\pm$ 17.2	90.2
5	295.2 $\pm$ 10.2	91.6	106.4 $\pm$ 5.4	92.5	60.2 $\pm$ 5.0	90.8	537.1 $\pm$ 19.6	91.7
6	274.3 $\pm$ 8.4	92.9	113.7 $\pm$ 0.8	106.9	58.0 $\pm$ 3.4	96.4	517.3 $\pm$ 10.2	96.6
$T/\%$	—	56.3	—	74.0	—	42.5	—	57.4

注:监控点 n 处的转移率=样品溶液 n 中某成分的含量/样品溶液 $n-1$ 中该成分的含量 $\times 100\%$; T =样品溶液6中某成分的含量/样品溶液1中该成分的含量 $\times 100\%$ 。

3 讨论

穿心莲中的成分复杂,已从中分离出多种二萜内酯类^[4]、黄酮类^[5]以及其他成分。A和DDA是目

前穿心莲药材及相关产品的质量控制成分^[6-7],文献报道NA有较好的药理活性^[8-10]。本研究以A、DDA及NA为目标,对工艺过程中这3种成分含量

表 4 厂家提供数据与实验自测数据的对比 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

数据来源	穿心莲药材 (A 和 DDA 总含量 $\times 10^{-2}$)	穿心莲浸膏 (A 和 DDA 总含量 $\times 10^{-2}$)	穿心莲注射液 (A 和 DDA 的量 $\times 10^{-2}/g \cdot L^{-1}$)
药厂	2.04 $\pm$ 0.32	1.43 $\pm$ 0.22	15.7 $\pm$ 1.1
实验室	2.08 $\pm$ 0.05	1.46 $\pm$ 0.03	17.2 $\pm$ 0.3

的变化进行了系统研究。

表 3 中的数据表明,每步工艺均会造成 3 种成分含量的降低,但监控点 2 到监控点 3 处的内酯总量损失最多,即加入活性炭回流并放置过夜工艺中的总内酯类成分转移率为 75.2%,而其他各步骤转移率都在 90% 以上。这可能与活性炭对 3 种内酯成分的吸附性有关。在整个生产过程中 3 种内酯总的转移率达 57.4%,但各成分的转移率不同。其中,A 的总转移率为 56.3%,NA 的总转移率为 74.0%,而 DDA 的总转移率仅有 42.5%,损失最为严重。由 DDA 在各工艺中的转移率可知,监控点 3 到监控点 4 处的转移率仅为 73.3%,而 A 与 NA 在此处的转移率均达 90% 以上。可这能是内酯的结构不同,则活性炭对其的吸附能力亦不同。

表 4 为实验室制备的与企业生产的 3 批穿心莲药材、穿心莲浸膏以及穿心莲注射液中 3 种内酯成分含量的对比,发现二者的均值几乎一致,且实验室制备的 3 批样品的方差更小。因此,本实验模拟的穿心莲注射液生产工艺,具有较高的实际参考价值。目前,大多数厂家对穿心莲注射液的质量控制仅限于对制剂本身或对药材、中间体、制剂三者进行定量测定。然而,由 2.1.1 项可知,穿心莲注射液的生产工艺步骤较多,均会对产品最后的质量有影响。因此,仅通过药材、中间体、制剂三者无法全面反应生产过程中的质量问题。本研究在穿心莲注射液的整个生产工艺流程中选取 6 处关键工艺作为监控点,分别对溶液中的 A,NA,DDA 进行含量监测,便于在生产过程中及时的发现并解决问题,有利于提高穿心莲注射液的质量,为该产品实现在线质量监控奠

定了良好的基础。现今中药产品的质量控制的现状基本相同,而本文将中药制剂的质量控制从药材、中间提取物、产品的静态控制变为对工艺过程的动态监控全方位的控制,对提高中药产品的质量提供了有益的探索,为其他中药产品的质量控制在提供借鉴。

[参考文献]

[1] 卫生部颁药品标准. 中药成方制剂第 19 册 [S]. 1998:129.

[2] 曾惠芳,黄晓丹,苏子仁,等. 试析穿心莲片中穿心莲内酯及脱水穿心莲内酯的变异因素 [J]. 中药新药与临床药理,2006,17(4):299.

[3] 黄晓丹,苏子仁,赖小平,等. 穿心莲片生产过程中脱水穿心莲内酯的含量变化 [J]. 中国中药杂志,2002(12):36.

[4] 陈丽霞,曲戈霞,邱峰. 穿心莲二萜内酯类化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志,2006,31(19):1594.

[5] 陈丽霞,曲戈霞,邱峰. 穿心莲黄酮类化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志,2006,31(5):391.

[6] 中国药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部 [S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:251.

[7] 傅欣彤,李琰,祁进,等. 穿心莲注射液质量标准研究 [J]. 中国中药杂志,2006,31(21):1829.

[8] 谭非,罗炳德,杨光,等. 新穿心莲内酯治疗中暑作用的研究 [J]. 中国工业医学杂志,2007,20(1):36.

[9] 刘峻,唐庆九,王峥涛. 新穿心莲内酯对小鼠巨噬细胞呼吸爆发及淋巴细胞增殖的影响 [J]. 中国新药与临床杂志,2005,24(3):206.

[10] 刘峻,王峥涛. 新穿心莲内酯对体外活化小鼠巨噬细胞的影响 [J]. 中国天然药物,2005,3(5):308.

[责任编辑 顾雪竹]