

晕清降压胶囊的质量标准研究

吴劲松¹, 刘春华², 陈玲珑¹, 易灿玲¹

(1. 湖南省中医药研究院附属医院, 湖南 长沙, 410006;

2. 湖南中医药大学, 湖南 长沙, 410208)

[摘要] 目的:建立晕清降压胶囊薄层色谱鉴别方法和高效液相色谱含量测定方法,制定其质量标准。方法:薄层色谱鉴别山楂、天麻、液相色谱测定天麻素和黄芪甲苷含量。结果:薄层色谱鉴别色谱中,供试品色谱在与对照药材色谱和对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性样品无干扰。天麻素在0.0505~0.404 μg范围内具有良好的线性关系,黄芪甲苷对照品在2.56~7.68 μg范围内线性关系良好。结论:该方法操作简便、准确可靠、重复性好,可为制定晕清降压胶囊的质量控制标准提供参考依据。

[关键词] 晕清降压胶囊;质量标准;薄层色谱

[中图分类号] R283.65 **[文献标识码]** A DOI:10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2019.02.063

Quality standard for Yunqing Jiangya capsules

WU Jinsong¹, LIU Chunhua², CHEN Linglong¹, YI Canling¹

(1. The Affiliated Hospital of Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410006, Hunan, China;

2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hunan, China)

[Abstract] Objective: To establish the methods for thin-layer chromatography (TLC) identification of Yunqing Jiangya capsules and content determination of Yunqing Jiangya capsules based on high-performance liquid chromatography (HPLC), and to develop the quality standard for Yunqing Jiangya capsules. Methods: TLC was used to identify *Crataegus pinnatifida* and *Gastrodia elata*, and HPLC was used to measure the content of gastrodin and astragaloside. Results: TLC identification showed that the test article had the spots with the same color at the same positions as the reference herb and reference substance, with no interference from negative control. Gastrodin showed a good linear relationship within the range of 0.0505~0.404 μg, and astragaloside showed a good linear relationship within the range of 2.56~7.68 μg. Conclusion: This method is simple, accurate, and reliable with good reproducibility and can provide a basis for developing the quality control standard for Yunqing Jiangya capsules.

[Key words] Yunqing Jiangya capsule; quality standard; thin-layer chromatography

晕清降压方为我院刘春华主任医师继承国医大师刘祖贻“运脾升清”调治理念后结合多年临床经验自拟的治疗代谢性高血压病的经验方,该方组成为:黄芪、绞股蓝、升麻、陈皮、泽泻、白术、天麻、钩藤等。本方以黄芪、绞股蓝为君药,2药入脾经,味甘性平或温,具有补益气血,健运脾气之功;天麻、钩藤性味甘平,归肝、心经,能息风止痉、平肝抑阳,为降压之常用中药。诸药合用,共达益气升阳、化痰泄浊之功效^[1]。该处方在我院临床已使用多年,疗效满意。但由于汤剂在保存与携带上的不方便性,影响了患者的顺应性;且汤剂受煎煮时间长短、水量多少、煎煮方式的不同可导致有效成分溶出不一致而影响疗效。本研究根据处方中各药味的药性及有效成分的溶解性,设计更为合理的工

艺提取路线,经过详细的工艺参数研究将本品制成胶囊剂,并对该制剂从原料到成品进行质量标准研究,建立定性及定量指标,制成一种配制工艺稳定、质量可控、安全有效的医院制剂,从而丰富我院治疗代谢性高血压的临床用药。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪 (SPD-20A 检测器, LC-20A 泵, LC-20B 泵, 日本岛津公司); 色谱柱 (Hypersil ODS2 5 μm, 尺寸 4.6 mm × 250 mm), 电子分析天平 (上海仪器有限公司), 薄层扫描仪及薄层色谱数据摄像系统 (瑞士卡玛公司)。

1.2 试剂 黄芪、天麻等 12 味药材均购于中药饮片公司, 经鉴定符合《中国药典》2015 年版一部各药材项下相关规

基金项目: 湖南省中医药管理局重点项目 (编号: 201730)

第一作者: 吴劲松, 男, 副主任药师, 研究方向: 中药制剂与药事管理

通讯作者: 陈玲珑, 女, 主管药师, 研究方向: 制剂及质量控制, E-mail: 583433030@qq.com

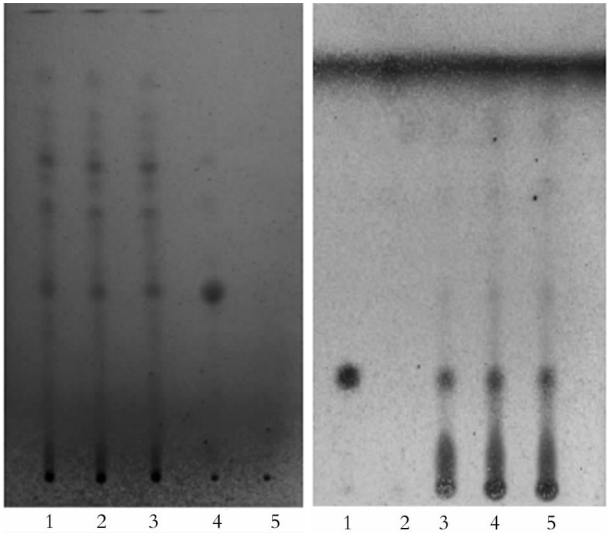
定;甲醇(色谱级,美国天地公司);水为重蒸馏水;天麻素对照品(批号:110807-201608,中国食品药品检定研究院);黄芩甲苷对照品(批号:110781-201616,中国食品药品检定研究院);山楂对照药材(批号:121138-200905,中国食品药品检定研究院),其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

2.1.1 山楂 取本品内容物 7g,研细,加乙酸乙酯 40ml,超声处理 15min,滤过,滤液作为供试品溶液。同供试品溶液制备方法制备缺山楂的阴性样品溶液。另取山楂对照药材 1.0g,自“加乙酸乙酯 40ml”起,同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法(通则 0502)试验,吸取上述 3 种溶液各 10μl,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(20:4:0.5)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 硫酸乙醇溶液,在 80℃ 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与山楂对照药材色谱主斑点相应的位置上,显相同颜色的斑点;缺山楂的阴性样品无干扰,故将此项鉴别列入质量标准。(见图 1)

2.1.2 天麻 取本品内容物 4g,研细,加 70% 甲醇 30ml,超声处理 30min,滤过,取滤液作为供试品溶液。同供试品溶液制备方法制备缺天麻的阴性样品溶液。取天麻素对照品,加甲醇制成每 1ml 含 1mg 的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(通则 0502)试验,吸取供试品溶液及阴性样品溶液各 10μl、对照品溶液 5μl,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-甲醇-水(9:1:0.2)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 磷钼酸乙醇溶液,在 105℃ 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点;缺天麻的阴性样品无干扰,故将此项鉴别列入质量标准。(见图 2)



1~3—晕清降压胶囊;
4—山楂对照药材;
5—缺山楂阴性样品;
图 1 山楂 TLC 鉴别

1—天麻素对照品;
2—缺天麻阴性样品;
3~5—晕清降压胶囊;
图 2 天麻 TLC 鉴别

2.2 天麻素含量测定

2.2.1 色谱条件 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以乙腈-0.05% 磷酸溶液(3:95)为流动相;进样量:5μl;流速:1ml/min;检测波长为 220nm。理论板数按天麻素峰计算应不低于 5000。

2.2.2 对照品溶液的制备 取天麻素对照品适量,精密称定,加乙腈-水(3:97)制成每 1ml 含 20μg 的溶液,作为对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 本品内容物研细,取约 2g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入稀乙醇 50ml,称定重量,超声处理(功率 120,频率 40kHz)30min,放冷,再称定重量,用稀乙醇补足减失的重量,滤过,精密量取续滤液 25ml,浓缩至近干无醇味,残渣加乙腈-水(3:97)混合溶液溶解,转移至 25ml 量瓶中,用乙腈-水(3:97)混合溶液稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.4 线性关系的考察 分别精密吸取天麻素对照品溶液(0.0505、0.101、0.202、0.303、0.404μg),注入液相色谱仪,按上述色谱条件测定,记录峰面积,得其回归方程为: $y = 5982.5x + 9.2006$, $r = 0.9999$,结果表明,天麻素在 0.0505 ~ 0.404μg 范围内具有良好的线性关系。(见表 1)

表 1 线性关系考察结果

天麻素(μg)	0.0505	0.101	0.202	0.303	0.404
峰面积	303	627	1213	1820	2428

2.2.5 精密度试验 精密吸取供试品溶液 10μl,按上述色谱条件重复进样 6 次,记录天麻素峰面积,计算 RSD 为 0.93% ($n = 6$),表明精密度良好。

2.2.6 稳定性试验 精密吸取供试品溶液(批号:20170801),分别于 0、2、4、6、8、12h 进样 10μl,记录天麻素峰面积,计算 RSD 为 0.96% ($n = 6$),表明供试品溶液在 12h 内基本稳定。

2.2.7 重复性试验 称取晕清降压胶囊内容物(批号:20170801)约 1g,共 6 份,精密称定,按供试品溶液的制备方法,制备 6 份供试品溶液,依法进行测定,计算平均值,天麻素平均含量为:0.252mg/片, $RSD = 0.83\%$ ($n = 6$),表明本方法重复性好。

2.2.8 回收率试验 精密称取已知含量(0.6643mg/g)的同一批样品(批号:20170801)约 0.5g,精密称定,分别精密加入天麻素溶液(0.30mg/ml)1ml,按供试品溶液制备方法,制备 6 份供试品溶液,分别进样,记录天麻素峰面积并计算含量,天麻素平均回收率为 97.6%, $RSD = 1.27\%$ ($n = 6$),表明该方法准确度好。

2.2.9 样品测定 精密称取 3 批中试样品(批号:20170801、20170802、20170803),按上述制备项下方法,制备供试品溶液,按前述色谱条件测定,计算天麻素的含量。(见表 2)

表 2 样品检测结果	
批号	含量(mg/粒)
20170801	0.279
20170802	0.253
20170803	0.246

2.3 黄芪甲苷含量测定

2.3.1 色谱条件 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以乙腈-水(35.5:64.5)为流动相;进样量:20μl;流速:1.0ml/min。理论板数按黄芪甲苷峰计算应不低于4000。

2.3.2 对照品溶液的制备 取黄芪甲苷对照品适量,精密称定,加甲醇制成每1ml含0.5mg的溶液,作为对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备 取本品约8g,精密称定,置索氏提取器中,加甲醇60ml,冷浸过夜,再加甲醇适量,加热回流4h,提取液回收溶剂并浓缩至干,残渣加水10ml,微热使溶解,用水饱和的正丁醇振摇提取4次,每次30ml,合并正丁醇液,用氨试液充分洗涤2次,每次20ml,弃去氨试液,正丁醇液蒸干,残渣加水5ml使溶解,放冷,通过D101型大孔吸附树脂柱(内径为1.5cm,柱高为12cm),以水50ml洗脱,弃去水液,再用40%乙醇30ml洗脱,弃去洗脱液,继用70%乙醇80ml洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加甲醇溶解,转移至5ml量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得。

2.3.4 线性关系的考察 精密吸取黄芪甲苷对照品溶液(2.56、3.84、5.12、6.40、7.68μg),注入高效液相色谱仪,测定,以黄芪甲苷峰面积为纵坐标,进样量(μg)为横坐标,绘制标准曲线。其回归方程为: $y = 3469813.36x - 5815124.60$, $r = 0.997$,结果表明:黄芪甲苷对照品在2.56~7.68μg范围内线性关系良好。(见表3)

表 3 黄芪甲苷线性关系考察结果					
黄芪甲苷(μg)	2.56	3.84	5.12	6.40	7.68
峰面积	3680068	7158940	11372004	16148487	21382100

2.3.5 精密度试验 精密吸取对照品溶液20μl,按上述色谱条件重复进样6次,记录黄芪甲苷峰面积,计算RSD为2.00%($n = 6$),表明精密度良好。

2.3.6 稳定性试验 精密吸取供试品溶液(批号:20170801),分别于0、2、4、6、8、12h进样20μl,记录峰面积,测得黄芪甲苷的RSD为1.83%($n = 6$),表明供试品溶液在12h内基本稳定。

2.3.7 重复性试验 称取晕清降压胶囊内容物(批号:20170801)约8g,共6份,精密称定,按供试品溶液的制备方法,制备6份供试品溶液,依法进行测定,计算平均值,黄芪甲苷平均含量为:59.3μg/粒,RSD=1.02%($n = 6$),表明本方法重复性好。

2.3.8 回收率试验 精密称取已知含量(141.2μg/g)的同一批样品(批号:20170801)约4g,精密称定,分别精密加入黄芪甲苷溶液(0.55mg/ml)1ml,按供试品溶液制备方法,制备6份供试品溶液,分别进样,测定,记录峰面积并计算含

量,黄芪甲苷平均回收率为96.8%,RSD=0.98%($n = 6$),表明该方法准确度高。

2.3.9 样品测定 精密称取3批中试样品(批号:20170801、20170802、20170803),按上述方法制备供试品溶液,分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各20μl,按上述色谱条件测定,计算样品中黄芪甲苷的含量。(见表4)

表 4 样品检测结果	
批号	含量(μg/粒)
20170801	59.3
20170802	48.5
20170803	52.6

3 讨论

天麻和黄芪是晕清降压胶囊方中的主要药味。2015年版《中国药典》^[2]中天麻的含量测定指标成分为天麻素和对羟基苯甲醇,黄芪为黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷。因中药复方制剂成分比较复杂,本实验研究选择黄芪甲苷和天麻素作为晕清降压胶囊含量测定待测成分。晕清降压胶囊组方药味较多,且黄芪中黄芪甲苷为皂苷类成分,前处理步骤较繁琐,选择恰当的前处理方法才能有效分离待测成分且尽可能减少目标成分的流失。本实验研究对晕清降压胶囊中黄芪甲苷供试品溶液制备进行索式提取^[3-7]、回流提取以及不同溶剂提取比较研究,最终选择文中上述处理方法,色谱图显示所示目标成分的干扰杂质少,分离度良好。晕清降压胶囊检查项参照2015年版《中国药典》^[2]胶囊剂项下相应的标准进行检验,均符合规定。采用HPLC同谱测定晕清降压胶囊中的天麻素和黄芪甲苷,其操作方法简便、稳定性强、重复性好,从而为制定晕清降压胶囊含量测定提供了参考,并为其申报医院制剂积累了资料。根据3批晕清降压胶囊的实测值,并考虑到制剂过程中的转移率等因素,暂定每粒含天麻素的量不得少于0.18mg,黄芪甲苷的量不得少于37μg。

参考文献

[1] 卜献春,刘芳.刘祖贻临证精华[M].北京:人民卫生出版社,2013:23-35.

[2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[S].一部.北京:化学工业出版社,2015.

[3] 王晶,赵重博,柏希慧,等.天仁安眠颗粒的质量标准研究[J].陕西中医药大学学报,2018,41(2):97-101.

[4] 杨玉军,孙爱萍,刘琪,等.天麻钩藤合剂质量标准的研究[J].中南药学,2018,16(2):228-232.

[5] 林晓燕.复方芪麻胶囊质量控制研究[D].广州:广州中医药大学,2017.

[6] 叶飞,王亚丽,魏娟娟,等.黄芪中黄芪甲苷含量测定的最新研究进展[J].宁夏师范学院学报,2018,39(4):52-56.

[7] 卢伟,孙晓敏,孙佳佳,等.2种黄芪甲苷含量测定方法的比较[J].中医临床研究,2016,8(2):43-45.