

天麻头风灵胶囊质量标准提升研究

刘正清, 郭元满, 杨 华

(湖南汉森制药股份有限公司, 湖南 益阳, 413000)

[摘要] 目的:提升天麻头风灵胶囊质量标准,有效控制其制剂质量。方法:采用薄层色谱法,以紫丁香苷和哈巴俄苷为对照,定性鉴别槲寄生和玄参;采用 HPLC 法对阿魏酸进行含量测定, C_{18} 柱(Inertsil ODS-2; 4.6mm × 250mm, 5 μ m);流动相:乙腈-0.05%磷酸溶液(16:84);检测波长:321nm;流速:1ml/min;柱温:30℃。结果:薄层色谱定性鉴别方法灵敏,专属性强;阿魏酸在 9.97~997ng 范围内线性良好, $r=0.9999$;加样回收率为 97.52%。结论:本方法简便、重复性好,为天麻头风灵胶囊质量标准提升奠定了基础。

[关键词] 天麻头风灵胶囊;HPLC;阿魏酸;紫丁香苷;哈巴俄苷

[中图分类号] R284 **[文献标识码]** A **DOI:** 10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2019.06.065

Improvement of the quality standard for Tianmatoufengling capsules

LIU Zhengqing, GUO Yuanman, YANG Hua

(Hunan Hansen Pharmaceutical Co., Ltd., Yiyang 413000, Hunan, China)

[Abstract] Objective: To improve the quality standard for Tianmatoufengling capsules, and to effectively control the quality of this prescription. Methods: With syringin and harpagoside as controls, thin-layer chromatography was used for qualitative identification of mistletoe and Radix Scrophulariae. High-performance liquid chromatography was used for the content determination of ferulic acid and was performed on an Inertsil ODS-2 C_{18} column (4.6mm × 250mm, 5 μ m) with a mobile phase of acetonitrile-0.05% phosphoric acid (16:84) at a detection wavelength of 321nm, a flow rate of 1ml/min, and a column temperature of 30℃. Results: Thin-layer chromatography was sensitive and highly specific in qualitative identification. Ferulic acid showed a good linear relationship within the range of 9.97~997ng ($r=0.9999$), with an average recovery rate of 97.52%. Conclusion: This method is simple and convenient and has good reproducibility, which lays a foundation for improving the quality standard for Tianmatoufengling capsules.

[Key words] Tianmatoufengling capsule; high-performance liquid chromatography; ferulic acid; syringin; harpagoside

天麻头风灵胶囊处方由天麻、牛膝、玄参等10味中药组成,有滋阴潜阳、祛风、强筋骨之功效^[1-2],用于治疗顽固性头痛、长期手足麻木、慢性腰腿酸痛^[3]。方中天麻平肝息风,地黄滋阴生血、调节心肝两经,二药标本兼顾共为君药。槲寄生、当归为臣药;钩藤、野菊花清肝泻火以止痛,杜仲补肝肾、强筋骨,共为佐药;川芎祛风止痛,牛膝强筋骨引火下行,共为使药。现行天麻头风灵胶囊质量标准控制水平较低,仅有鉴别项,且有文献报道多针对天麻头风灵胶囊中天麻素的含量进行测定^[4-7]。针对处方中当归与槲寄生用量大,本研究以紫丁香苷和哈巴俄苷为对照品,对照定性鉴别槲寄生和玄参,采用 HPLC 法对当归和川芎主要成分阿魏酸进行含量测定,以期提升天麻头风灵胶囊质量标准奠定基础。

1 仪器与试药

1.1 仪器 安捷伦 1260 高效液相色谱仪(安捷伦公司);

KQ-500DV 超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司); TE1502S 电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]

1.2 试药 天麻头风灵胶囊(湖南汉森医药研究有限公司,批号:20170901、20170903、20170905、20180201);紫丁香苷对照品(中国药品生物制品检定所,批号:111574-200603);哈巴俄苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号:111730-201106);槲寄生对照药材(中国药品生物制品检定所,批号:121038-201004);玄参对照药材(中国食品药品检定研究院,批号:121008-201308);阿魏酸对照品(中国食品药品检定研究院提供,供含量测定用,批号:110773-201313);色谱甲醇、色谱乙腈(美国 TEDIA);纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司)。

2 方法与结果

2.1 槲寄生和玄参薄层色谱鉴别

2.1.1 溶液制备 1)对照品溶液的制备。取紫丁香苷对

照品、哈巴俄苷对照品适量,加甲醇制成每1ml各含1mg的混合溶液,作为对照品溶液。2)供试品溶液的制备。取天麻头风灵胶囊粉末10g,置具塞锥形瓶中,加乙醇50ml,加热回流1h,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加水20ml使溶解,用水饱和的正丁醇振摇提取3次,每次30ml,合并正丁醇液,用氨试液洗涤2次,每次50ml,弃去氨试液,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇1ml使溶解,作为供试品溶液。3)对照药材溶液的制备。取玄参、槲寄生对照药材各1g,同法分别制成玄参、槲寄生对照药材溶液。4)阴性对照溶液的制备。取缺玄参、槲寄生阴性样品粉末各10g,同法分别制成玄参阴性对照溶液、槲寄生阴性对照溶液。

2.1.2 专属性 照薄层色谱法(《中国药典》2015年版四部通则0502)试验,吸取上述5种溶液各5 μ l,分别点于同一硅胶GF254薄层板上,以三氯甲烷-甲醇-甲酸-水(15:3:0.2:0.25)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(254nm)下检视,结果见图1。

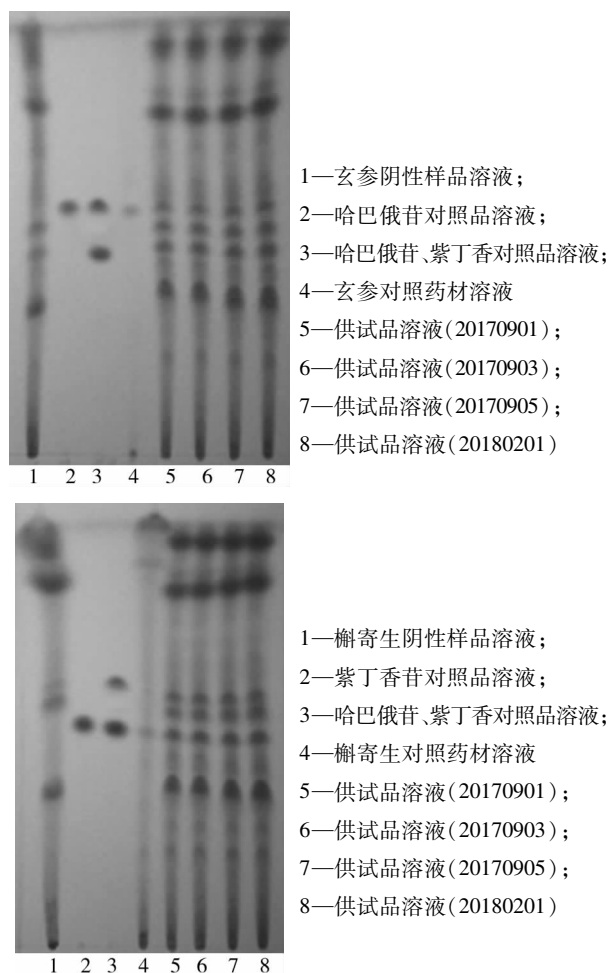


图1 天麻头风灵胶囊薄层鉴别色谱图

2.1.3 点样量考察 按拟定的方法,考察对照品溶液、供试品溶液点样量对实验结果的影响。结果表明,哈巴俄苷、紫丁香苷混合对照品溶液、供试品溶液点样量为5 μ l或10 μ l

时斑点均较为清晰,点样量为15 μ l时供试品溶液不易点样,且色带偏重,影响斑点辨识,故确定哈巴俄苷、紫丁香苷对照品溶液及供试品溶液点样量均为5~10 μ l。

2.1.4 耐用性考察 按拟定的方法,分别考察在不同温度、不同湿度及不同的薄层色谱板条件下展开对试验结果的影响。

2.1.4.1 温度耐用性考察 分别于25 $^{\circ}$ C与5 $^{\circ}$ C展开,结果表明,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,均显相同颜色的主斑点,且斑点清晰,斑点分离度均较好,Rf值均适当,说明温度对其没有影响,在室温条件下操作即可。

2.1.4.2 湿度耐用性考察 分别观察了在湿度为32%、58%、88%下的展开情况,结果表明,湿度控制在32%~88%之间,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,均显相同颜色的主斑点,且斑点清晰,斑点分离度均较好,Rf值均适当,说明湿度对其没有影响,在室内湿度下操作即可。

2.1.4.3 薄层板耐用性考察 考察3个不同厂家的薄层板与手铺板,结果表明,青岛海洋硅胶G板斑点较清晰,不拖尾,斑点分离度较好,但海浪硅胶G板、黄海硅胶G板及手铺板也能满足试验要求,说明,此薄层方法具有一定的耐用性。

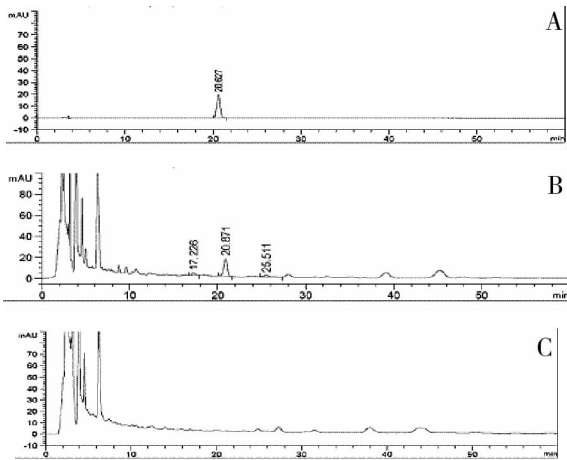
2.2 阿魏酸含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱: C₁₈柱, Inertsil ODS-2 (4.6mm $\times$ 250mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈-0.05%磷酸溶液(16:84); 检测波长: 321nm; 柱温: 30 $^{\circ}$ C; 流速: 1.0 mL/min。

2.2.2 溶液的制备 1)对照品溶液的制备。精密称定阿魏酸对照品10mg置50ml棕色量瓶中,加70%甲醇使溶解并稀释至刻度,摇匀,精密吸取上述对照品溶液5ml,置100ml棕色量瓶中,加70%甲醇稀释至刻度,摇匀,即得阿魏酸对照品溶液。2)供试品溶液的制备。取装量差异下的本品内容物,研细,取约2g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入70%甲醇各50ml,密塞,称定重量,加热回流1h,放冷,再称定重量,用70%甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。3)阴性样品溶液的制备。按处方称取缺当归和川芎的其他药味适量,制成缺当归和川芎的双阴性对照样品,同“2.2.2”项下方法制备缺当归和川芎的阴性样品溶液^[8-9]。

2.2.3 专属性试验 将供试品溶液、对照品溶液、缺当归和川芎的阴性样品溶液分别进样10 μ l,对比供试品、对照品与阴性样品的色谱图,结果表明阴性无干扰。(见图2)

2.2.4 耐用性考察 考察了不同品牌高效液相色谱仪(安捷伦、岛津、waters)、不同品牌色谱柱(Inertsil ODS-2、Agilent Eclipse XDB-C₁₈、Shodex C₁₈)、不同流速(0.8~1.2ml/min)的耐用性,结果表明,各耐用性考察RSD值均在2%以内,该方法耐用性较好。



A—对照品； B—供试品 C—阴性样品

图2 天麻头风灵胶囊 HPLC 色谱图

2.2.5 线性关系考察 精密称取阿魏酸对照品适量,分别配置成 0.0009997、0.004985、0.009970、0.01994、0.03988、0.06979mg/ml 的对照品溶液,各取 10μl 注入液相色谱仪,根据峰面积绘制标准曲线,计算回归方程: $y = 5386.4386x - 8.5735$, $r = 0.9999$ 。结果表明阿魏酸对照品在 0.009970 ~ 0.9970μg 范围内具有良好线性。

2.2.6 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液(批号:20170901),进样 6 次,每次 10μl,依法测定,峰面积积分值的 RSD 为 0.52%。本方法精密度良好。

2.2.7 重复性试验 取天麻头风灵胶囊(批号:20170901)按“2.2.2”项下方法制备 6 份供试品溶液,进样检测,计算 RSD 为 0.81%。本方法重复性好。

2.2.8 稳定性试验 取天麻头风灵胶囊(批号:20170901)按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,分别在 0、2、4、6、8、12、24h 进行检测,计算 RSD 为 0.49%,结果表明供试品溶液在 24h 内稳定。

2.2.9 回收率试验 精密称定 6 份已知含量的天麻头风灵胶囊内容物(阿魏酸 0.1908mg/g),按表 1 分别精密加入一定量对照品,依“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,依法检测,并计算回收率,结果见表 1。结果表明,6 份样品的回收率均在 95% ~ 105% 之间,说明本方法加样回收率好,准确度高。

表 1 回收率试验结果

取样量 (g)	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1.0023	0.1912	0.1944	0.3802	97.22		
0.9749	0.1860	0.1944	0.3786	99.07		
0.9939	0.1896	0.1944	0.3812	98.56		
1.0019	0.1912	0.1944	0.3823	98.30	97.52	1.37
1.0070	0.1921	0.1944	0.3784	95.83		
0.9827	0.1875	0.1944	0.3744	96.14		

2.2.10 样品测定 取 20170901、20170903、20170905、20180201 共计 4 个批号的天麻头风灵胶囊样品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,进样 10μL,测定。4 批天麻头风灵胶囊中尿囊素含量分别为 0.1908、0.1913、0.1947、0.1886mg/g。

3 讨论

3.1 检测波长选择 取对照品溶液,采用紫外-可见分光光度计,于 190 ~ 400nm 波长范围内进行扫描,结果表明阿魏酸在 323.10nm 处均存在最大吸收,参考《中国药典》2010 版一部“川芎”阿魏酸含量测定检测波长 321nm,确定检测波长为 321nm。

3.2 流动相选择 分别采用了甲醇-水(20:80)、乙腈-水(16:84)、甲醇-1%醋酸溶液(25:75)、甲醇-0.05%磷酸溶液(25:75)、甲醇-0.085%磷酸溶液(25:75)、乙腈-0.085%磷酸溶液(16:84)等流动相进行了测定。结果表明,以乙腈-0.085%磷酸溶液(16:84)为流动相时,阿魏酸出峰时间适中,峰型较好,分离度、对称因子和理论塔板数均较好,因此选择乙腈-0.085%磷酸溶液(16:84)作为流动相。

3.3 供试品提取溶剂与提取方法选择 分别考察提取溶剂:甲醇、70% 甲醇、50% 甲醇、稀乙醇、70% 乙醇、乙醇;提取方式考察:超声处理(功率 300w,频率 40kHz)30、45、60、90min,回流 0.5、1、2、3h。结果表明,加热回流提取方法的含量结果远高于超声提取方法,故选择回流提取。回流提取 1、2h 的阿魏酸得率相近,故提取时间选择为 1h。

参考文献

[1] 郭文萍,白小石,李来秀. 天麻头风灵胶囊的制备及质量标准研究[J]. 中成药,2005,27(2):246-248.

[2] 梅洁萍. 天麻头风灵胶囊的方解[J]. 广东医学,1997,18(7):7.

[3] 李来秀. 天麻头风灵胶囊治疗头痛 108 例[J]. 陕西中医,2002,23(2):108-109.

[4] 胡顺波,赵晓荣,郭洪丽. 高效液相色谱法测定天麻头风灵胶囊中天麻素含量[J]. 中国药业,2011,20(16):34.

[5] 陈韵蓓. 应用 HPLC 法测定天麻头风灵胶囊中天麻素含量[J]. 实用医院临床杂志,2014,11(6):154-156.

[6] 吴勘辉,庄洪涛. 缩泉丸治疗儿童遗尿症 60 例[J]. 陕西中医,2007,28(11):1521-1522.

[7] 陈维,崔小兵,李伟. 天麻头风灵胶囊的质量标准研究[J]. 中国中医药信息杂志,2007,14(3):39-41.

[8] 潘玉华,王安琪. HPLC 法测定天麻头风灵胶囊中阿魏酸的含量测定研究[J]. 黑龙江科技信息,2016,20(1):45.

[9] 颜栋林. 高效液相色谱法测定参芪益气安神合剂中阿魏酸含量[J]. 医药导报,2015,34(s1):83-84.

(收稿日期:2018-09-10)