

综上, 本实验的定性、定量方法准确、简便, 为双丹胶囊质量标准的提高提供科学的依据。

参考文献:

- [1] 国家药品监督管理局. 国家药品标准(试行)[S]. WS3-137(X-137)-2003(Z).
- [2] 葛志伟, 贺庆, 水文波, 等. HPLC 测定双丹颗粒中丹酚酸 B 和芍

药苷的含量[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(13): 1062.

- [3] 李正国, 郭凡岭, 张爱琴. RP-HPLC 测定双丹颗粒中丹参素和原儿茶醛含量. 药物分析杂志, 2004, 24(5): 558.
- [4] 国家药品监督管理局. 国家药品标准(试行)[S]. WS3-134(Z-134)-2003(Z).
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(1 部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 70.

(编辑: 修春)

通脑溶栓胶囊的质量标准研究

窦建卫¹, 袁倩倩¹, 宋海林¹, 陈茹茹², 朱少英¹, 杨学礼³(1. 西安交通大学医学部药学院, 陕西 西安 710061; 2. 陕西中医学院, 陕西 西安 712046; 3. 西安洲良明康生物医药科技有限公司, 陕西 西安 710075)

摘要: **目的** 建立通脑溶栓胶囊的质量控制方法。**方法** 采用薄层色谱法对制剂中的粉葛、黄芪、鸡血藤和赤芍进行定性鉴别; 采用高效液相色谱法对制剂中的粉葛所含成分葛根素进行含量测定。色谱柱: C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm×150 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(25:75); 检测波长: 250 nm。**结果** 在薄层色谱中均能检出粉葛、黄芪、鸡血藤和赤芍; 葛根素进样量在 0.06784~0.40704 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系, $r=0.9998$, 平均回收率为 98.9 % ($n=6$), RSD 为 1.1 %。**结论** 本研究所建立的方法简便, 准确, 重复性好, 可用于通脑溶栓胶囊的质量控制。

关键词: 通脑溶栓胶囊; 质量标准; 薄层鉴别; 高效液相色谱法; 葛根素

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)01-0061-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.01.016

Study on Quality Standard of Tongnao Rongshuan Capsule

DOU Jianwei¹, YUAN Qianqian¹, SONG Hailin¹, CHEN Ruru², ZHU Shaoying¹, YANG Xueli³(1. College of Medical Science, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061 Shanxi, China; 2. Shanxi University of Chinese Medicine, Xi'an 712046 Shanxi, China; 3. Xi'an Zhouliang Mingkang Biomedical Science and Technology Co.Ltd, Xi'an 710075 Shanxi, China)

Abstract: **Objective** To establish a quality standard for Tongnao Rongshuan Capsule. **Methods** Radix Puerariae, Radix Astragali, Caulis Spatholobi and Radix Paeoniae were identified by thin layer chromatography(TLC). Puerarin was determined by high performance liquid chromatography(HPLC). The HPLC system consisted of chromatographic column C₁₈ (4.6 mm×150 mm, 5 μm) with methanol - water(25 : 75) as the mobile phase, and the detective wave length was set at 250nm. Results Radix Puerariae, Radix Astragali, Caulis Spatholobi and Radix Paeoniae can be detectable by TLC. The linearity range of puerarin was 0.06784~0.40704 μg($r=0.9998$), the average recovery was 98.9 % , and RSD was 1.1 % ($n=6$). **Conclusion** The established method is simple, accurate and with good reproducibility, and can be used for the quality control of Tongnao Rongshuan Capsule.

Keywords: Tongnao Rongshuan Capsule; Quality standard; Thin layer chromatography; High performance liquid chromatography; Puerarin

收稿日期: 2013-06-25

作者简介: 窦建卫, 男, 副教授, 研究方向: 中药新药研发。Email: djw@mail.xjtu.edu.cn。通讯作者: 杨学礼, 男, 主管药师, 主要从事中药新药研发工作。Email: yxueli1921@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金(30300444); 科技部中小企业技术创新基金(12C26216106788)。

通脑溶栓胶囊是由粉葛、黄芪、鸡血藤、赤芍、川芎、桃仁、地龙等中药加工制成的内服胶囊剂，处方源于临床经验方，具有活血化瘀、益气通络的功效。主治中风(脑梗塞)恢复期所致的半身不遂、口眼歪斜、偏身感觉麻木、肢体痉挛、语言不利等属气虚血瘀证者。为控制该制剂的内在质量，本文采用薄层色谱法对其中的粉葛、黄芪、鸡血藤和赤芍进行了定性鉴别，并采用高效液相色谱法对粉葛所含葛根素进行含量测定^[1-3]。

1 仪器与试药

1.1 仪器 高效液相色谱仪(Lab Alliance 型恒流泵; Lab Alliance 型检测器; N3000 色谱工作站)，天津市东康科技有限公司；超声波清洗机，天津市东康科技有限公司；FA1104N 型电子天平，上海天平仪器厂。

1.2 试药 葛根素对照品，批号：110752-200511；芍药苷对照品，批号：110736-200526；芒柄花素对照品，批号：111703-200501；黄芪对照药材，批号：120974-200508；鸡血藤对照药材，批号：121173-200402，以上均购自中国药品生物制品检验所。通脑溶栓胶囊 3 批样品（批号：20120822、20120824、20120829），陕西博森生物制药股份有限公司。乙腈为色谱纯，其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

2.1.1 粉葛 取本品内容物 2 g，加甲醇 20 mL，超声提取 20 min，滤过，滤液蒸干，残渣加甲醇 0.5 mL 使溶解，作为供试品溶液。另取缺粉葛药材的阴性样品 2 g，按照供试品溶液制备方法制成缺粉葛药材的阴性对照品溶液。再取葛根素对照品，加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液，作为对照品溶液。按照薄层色谱法（《中华人民共和国药典》2010 年版一部附录 VI B）试验，吸取上述 3 种溶液各 10 μ L，分别点于同一以羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 H 薄层板上，以三氯甲烷-甲醇-水（7：2.5：0.25）为展开剂，展开，取出，晾干，置紫外光灯（365 nm）下检视^[2]。供试品色谱中，在与对照品色谱相应的位置上，显相同颜色的荧光斑点。见图 1A。

2.1.2 黄芪与鸡血藤 取本品内容物 5 g，加乙醇 30 mL，加热回流 20 min，滤过，滤液蒸干，残渣加 0.3 % 氢氧化钠溶液 15 mL 使溶解，滤过，滤液用稀盐酸调节 pH 值至 5~6，用乙酸乙酯 15 mL 振摇提取，分取乙酸乙酯液，用铺有适量无水硫酸钠的滤纸

滤过，滤液蒸干。残渣加乙酸乙酯 1 mL 使溶解，作为供试品溶液。另取缺黄芪与鸡血藤药材的双阴性样品 5 g，按照供试品溶液制备方法制成缺黄芪与鸡血藤药材的双阴性对照品溶液。另外，称取鸡血藤对照药材与黄芪对照药材各 1 g，分别按照供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。再称取芒柄花素^[4-5]对照品适量，加乙酸乙酯制成 1 mL 含 1 mg 的溶液，作为对照品溶液。按照薄层色谱法（《中华人民共和国药典》2010 年版一部附录 VI B）试验，分别吸取上述溶液各 10 μ L，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以三氯甲烷-甲醇（30：1）为展开剂，展开，取出，晾干，置氨蒸汽中熏后置紫外光灯（365 nm）下检视。供试品色谱中在与对照品及对照药材色谱相应的位置上分别显相同颜色的荧光斑点。见图 1B。

2.1.3 赤芍 取本品内容物 1 g，加乙醇 10 mL，振摇 5 min，滤过，滤液蒸干，残渣加乙醇 2 mL 使溶解，作为供试品溶液。另取缺赤芍药材的阴性样品 1 g，按照供试品溶液制备方法制成缺赤芍药材的阴性对照品溶液。再取芍药苷对照品，加乙醇制成每 1 mL 含 2 mg 的溶液，作为对照品溶液。按照薄层色谱法（《中华人民共和国药典》2010 年版一部附录 VI B）试验，吸取上述 3 种溶液各 4 μ L，分别点于同一硅胶 G 薄层板上，以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸（40：5：10：0.2）为展开剂，展开，取出，晾干，喷以 5 % 香草醛硫酸溶液，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，显相同的蓝紫色颜色的斑点。见图 1C。

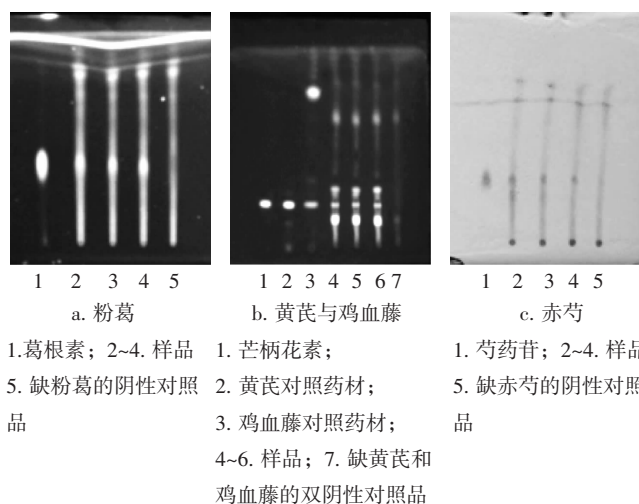


图 1 粉葛、黄芪、鸡血藤、赤芍 TLC 鉴别图

Figure 1 TLC chromatograms of Radix Puerariae, Radix Astragali, Caulis Spatholobi and Radix Paeoniae

2.2 葛根素的含量测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱: C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm×150 mm, 5 μm, 汉邦公司生产); 流动相: 甲醇-水(25: 75); 检测波长为 250 nm。按葛根素峰计算, 理论板数应不低于 4000。

2.2.2 葛根素对照品溶液的制备 精密称取葛根素适量, 加 30 %乙醇制成每 1 mL 含葛根素 0.424 mg 的溶液, 摇匀, 作为储备液。精密量取储备液 1 mL 置于 10 mL 量瓶中, 加 30 %乙醇定容, 摇匀, 从中精密量取 5 mL 置于另一 10 mL 量瓶中, 加 30 %乙醇定容, 摇匀, 即得对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品内容物 4 g, 研细, 过四号筛, 称取药粉约 1 g, 精密称定, 置锥形瓶中, 精

密加入 30 %乙醇 50 mL, 称定质量, 超声提取 30 min, 放冷, 再称定质量, 用 30 %乙醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 过 0.45 μm 滤膜, 即得。

2.2.4 阴性对照品溶液的制备 取除葛根素外的其余处方量药材同法制备阴性样品, 按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.2.5 专属性试验 取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照品溶液各 10 μL, 注入液相色谱仪, 测定。结果表明, 阴性对照溶液在与葛根素对照品相应的保留时间处, 无峰出现, 表明处方中其他药材中的成分对葛根素的测定不会产生干扰。结果见图 2。

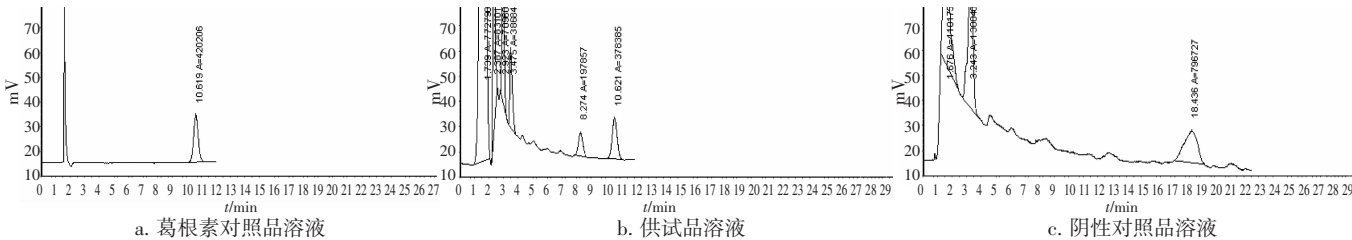


图 2 通脑溶栓胶囊高效液相色谱图
Figure 2 HPLC chromatograms of Tongnao Rongshuan Capsule

2.2.6 线性关系考察 精密量取对照品储备溶液 (0.424 mg·mL⁻¹) 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0, 2.4 mL, 分别置 6 个 25 mL 的量瓶中, 各用 30 %乙醇稀释至刻度, 摇匀, 分别进样两次, 每次 10 μL, 测定峰面积, 以进样量(μg)作为横坐标(X), 以葛根素各浓度所得峰面积积分值的均数作为纵坐标(Y), 进行线性回归(n=6)得回归方程为: Y=2.0569×106X-7.5565 × 10³, 相关系数 r=0.9998。结果表明葛根素在 0.06784~0.40704 μg 之间有良好的线性关系。

2.2.7 精密度试验 精密吸取同一对照品溶液 10 μL, 连续进样 6 次, 测定其峰面积积分值。结果 RSD 为 0.80 %, 表明仪器精密度良好。

2.2.8 稳定性试验 分别精密吸取同一供试品溶液(批号: 20080822)10 μL, 分别于 0, 2, 4, 6 和 8 h 进样, 测定其峰面积积分值。结果 RSD 为 1.75 % (n=5), 说明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.2.9 重复性试验 取同一批样品(批号: 20120822) 6 份, 按供试品溶液制备方法平行处理并测定。结果平均含量为 1.30 mg·g⁻¹, RSD 为 2.00 %, 表明本方法重复性好。

2.2.10 回收率试验 取同一批样品(批号: 20120822) 0.5 g, 共 6 份, 精密称定, 分别加入葛根素对照品

适量, 照供试品溶液的制备的方法制成供试品溶液, 在上述色谱条件及测定方法进行测定, 结果见表 1。

表 1 样品的回收率试验结果(n=6)

Table 1 Recovery of puerarin						
编号	样品中的量 /mg	加入量 /mg	测得总量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	0.6614	0.52	1.1777	99.29	98.9	1.1
2	0.6757	0.52	1.1990	100.63		
3	0.7030	0.52	1.2110	97.69		
4	0.6673	0.52	1.1784	98.29		
5	0.6783	0.52	1.1875	97.92		
6	0.6883	0.52	1.2050	99.37		

2.2.11 样品含量测定 取 3 批 (批号 20120822, 20120824, 20120829)样品, 按含量测定项下制成供试品溶液。精密吸取上述对照品溶液与供试品溶液各 10 μL, 分别注入色谱仪, 按上述色谱条件测定, 计算葛根素的含量, 结果见表 2。

表 2 通脑溶栓胶囊样品中葛根素含量的测定(n=3)

Table 2 Determination of puerarin	
批号	每粒胶囊中葛根素含量 /mg
20120822	0.52
20120824	0.49
20120829	0.49

3 讨论

在实验过程中,我们按照《中华人民共和国药典》方法对黄芪进行薄层鉴别,发现阴性有干扰。通过参考文献,发现黄芪药材和鸡血藤药材主斑点是一成分——芒柄花素^[4,5]。所以,我们对方法进行了改进,进行了双阴性的研究,发现双阴性无干扰,且重现性好。

在供试品溶液的制备中,为保证样品中葛根素提取充分,对提取时间进行了考察(时间 10, 20, 30 和 40 min),结果表明,时间 30 min 即能将样品中葛根素提取完全。

本文选定的方法能很好地鉴别该制剂中的粉葛、黄芪、鸡血藤和赤芍,且用于测定制剂中葛根素含量

的 HPLC 法操作简便、重复性好、精密度高,可作为该制剂的质量控制方法。

参考文献:

- [1] 刘宁, 盛蓉, 谈静, 等. 高效液相色谱法测定四川粉葛中葛根素的含量[J]. 中国医药导报, 2009, 6(18): 50-51.
- [2] 国家药典委员会. 《中华人民共和国药典》(1 部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 312-313.
- [3] 杜鹏, 乔建军, 来玉梅. 高效液相色谱法测定降脂减肥片中葛根素的含量[J]. 西北药学杂志, 2008, 23(2): 74-75.
- [4] 舒顺利, 应军, 刘军民, 等. 鸡血藤化学成分研究[J]. 中药新药与临床药理, 2012, 23(2): 184-185.
- [5] 史婉璐, 王红秋. 黄芪化学成分及药理作用综述[J]. 黑龙江科技信息, 2012, (15): 52.

(编辑: 修春)

HPLC 法同时测定菟丝子中 5 种成分的含量

李怀国¹, 叶家宏², 李子鸿¹, 刘东文¹, 徐海燕¹ (1. 广东省佛山市中医院, 广东 佛山 528000; 2. 广州中医药大学, 广东 广州 510405)

摘要: **目的** 建立测定菟丝子中绿原酸、金丝桃苷、异槲皮苷、紫云英苷、山奈酚的含量方法。**方法** 采用高效液相色谱(HPLC)法。色谱柱为 Zorbax SB C₁₈; 流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液, 梯度洗脱; 绿原酸的检测波长为 327 nm, 金丝桃苷、异槲皮苷、紫云英苷、山奈酚的检测波长为 360 nm; 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 柱温为 30 ℃。**结果** 5 种活性成分均达到基线分离, 线性关系良好($r \geq 0.9998$); 平均加样回收率为 96.8%~101.0%, RSD < 3.0% ($n=6$)。**结论** 该方法灵敏, 可靠, 可用于菟丝子药材的质量评价。

关键词: 菟丝子; 绿原酸; 金丝桃苷; 异槲皮苷; 紫云英苷; 山奈酚; 高效液相色谱法

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)01-0064-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.01.017

Content Determination of Five Constitutes of Semen Cuscutae by HPLC

LI Huaiguo¹, YE Jiahong², LI Zihong¹, LIU Dongwen¹, XU Haiyan¹ (1. Foshan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Foshan 528000 Guangdong, China; 2. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China)

Abstract: Objective To establish a method for the content determination of chlorogenic acid, hyperoside, isoquercitrin, astragaloside and kaempferol in Semen Cuscutae by high performance liquid chromatography (HPLC).

Methods HPLC was performed on Zorbax SB C₁₈ column, the acetonitrile-0.1% phosphoric acid (gradient elution) was employed as the mobile phase, and detection wavelength was 327 nm for chlorogenic acid and 360 nm for hyperoside, isoquercitrin, astragaloside and kaempferol. Column temperature was 30 ℃, and flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. **Results** Baseline separation were obtained and linear relationship were good ($r \geq 0.9998$) for the five main constituents. The average recoveries were 96.8%~101.0% and RSD < 3.0% ($n=6$). **Conclusion** The established

收稿日期: 2013-06-25

作者简介: 李怀国, 男, 副主任药师, 研究方向: 医院制剂生产与质量管理。Email: Fscolor@163.com。