

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.13.009

固本安神胶囊质量标准研究*

张玉昆,冯月男,孙思邈,牛雯颖[△]

(黑龙江中医药大学,黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要:目的 建立固本安神胶囊的质量标准。方法 对固本安神胶囊中君药葛根及臣药五味子、黄芩进行薄层色谱鉴别;采用紫外分光光度计测定君药葛根中活性成分葛根素的含量。结果 固本安神胶囊的薄层色谱图与相应对照药材和对照品的色谱均显相同斑点,且阴性对照无干扰;葛根素的质量浓度在 0.003 2~0.011 2 g/L 范围内与峰面积线性关系良好($r=0.999\ 2$),平均加样回收率为 100.80%,RSD 为 2.46% ($n=6$)。结论 该方法可用于固本安神胶囊的质量控制。

关键词:固本安神胶囊;紫外分光光度法;薄层色谱法;质量标准

中图分类号:R932;R286.0

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2019)13-0033-03

Quality Standard of Guben Anshen Capsules

ZHANG Yukun, FENG Yuenan, SUN Simiao, NIU Wenying

(Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin, Heilongjiang, China 150040)

Abstract: **Objective** To establish the quality control of Guben Anshen Capsules. **Methods** The principal drug(*Radix Puerariae*) and the ministerial drugs(*Schisandra chinensis* and *Radix Scutellariae*) in Guben Anshen Capsules were identified by TLC. The content of puerarin in the principal drug(*Radix Puerariae*) was determined by ultraviolet spectrophotometer. **Results** The TLC of Guben Anshen Capsules showed the same spots as those of the corresponding reference crude drugs and standard substances, the negative control had no interference. In the content determination, the puerarin showed good linear relationship with peak area in the range of 0.003 2~0.011 2 g/L($r=0.999\ 2$), the average recovery was 100.80% and RSD was 2.46% ($n=6$). **Conclusion** The method can be used for the quality control of Guben Anshen Capsules.

Key words: Guben Anshen Capsules; ultraviolet spectrophotometer; TLC; quality standard

固本安神胶囊是由葛根、黄芩、五味子、生地、淫羊藿、巴戟天等 12 味中药组方,是应用多年的临床经验方剂,治疗阴阳两虚型更年期综合征效果显著。西医治疗更年期多以补充激素水平为手段,但不良反应较多^[1]。中药复方的多药效成分对应疾病多靶点的治疗较西药单一靶点治疗更年期不同症状更加具有适应性^[2-3]。课题组前期研究已确立了固本安神胶囊的制备工艺^[4-5],本研究中旨在建立其质量标准。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

DT201 型电子天平(千分之一,意欧仪器仪表有限公司);电子分析天平(十万分之一,梅特勒-托利多上海公司);ZF-7 型紫外线分析仪(上海嘉鹏科技有限公司);UV-1601PC 型紫外可见分光光度计(日本岛津公司);MP5200H 型超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司);硅胶 G 薄层板(自制);玻璃点样毛细管。

1.2 试剂

葛根对照药材(批号为 201407-121551),葛根素

对照品(批号为 201318-110752),黄芩对照药材(批号为 201407-120955),黄芩苷(批号为 201402-112002),五味子对照药材(批号为 201410-120922),五味子醇甲(批号为 201411-110857),均购自中国食品药品检定研究院;固本安神胶囊(黑龙江中医药大学附属第一医院自制,批号为 201801-201806);乙酸乙酯、丁酮、三氯甲烷、氨水、甲醇、石油醚(60~90℃)、甲酸、正丁醇、甲酸乙酯,均为分析纯,均购自天津科密欧公司。

2 方法与结果^[6-10]

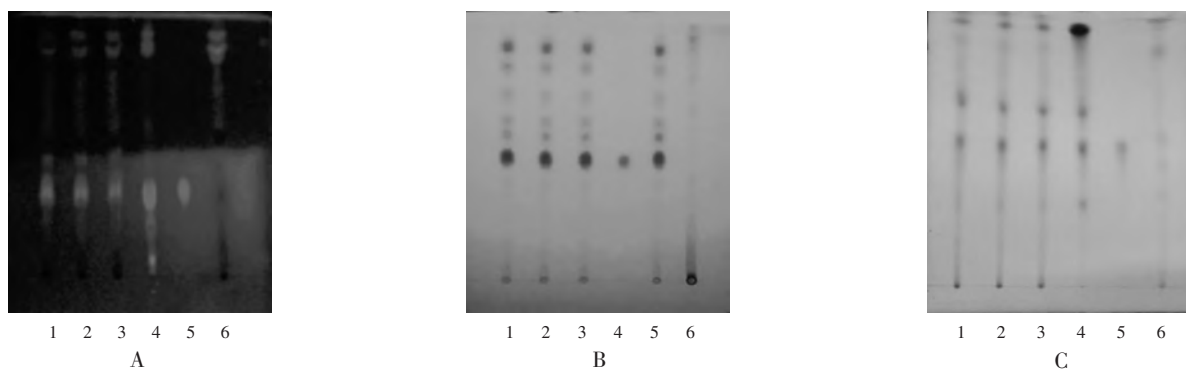
2.1 薄层色谱鉴别

葛根:取精细研磨的本品 4 g,置 25 mL Erlenmeyer 烧瓶中,加 10 mL 乙酸乙酯,超声处理 21 min,滤过后,将滤液蒸发至干,加入 1 mL 甲醇以溶解残渣,即得供试品溶液。以原方等比按配方工艺制成不含葛根的样品,同法制备阴性对照品溶液。取对照药材葛根 0.8 g,置 25 mL Erlenmeyer 烧瓶中,按供试品溶液制备方法制备成对照药材溶液。取葛根素对照品适量,用甲醇溶解成

*基金项目:国家自然科学基金项目[81703981];黑龙江中医药大学科研基金资助项目[201739];黑龙江省博士后科研启动金项目[LBH-Q16213];黑龙江省普通本科高等学校青年创新人才培养计划[UNPYSCT-2016077];黑龙江省高校基本科研业务费支持计划项目[2017PT07];黑龙江省普通本科高等学校青年创新人才培养计划[UNPYSCT-2018232]。

第一作者:张玉昆,男,硕士研究生,实验师,研究方向为复方中药药理与药学,(电子信箱)zhang520-888@163.com。

[△]通信作者:牛雯颖,女,博士研究生,副研究员,研究方向为方剂药理学,(电话)0451-82193492(电子信箱)121505982@qq.com。



1-3. 供试品溶液(批号分别为 201801, 201802, 201803) 4. 对照药材溶液 5. 对照品溶液 6. 阴性对照品溶液

A. 葛根 B. 五味子 C. 黄芩

图1 薄层色谱图

为 1:1 的溶液,即得对照品溶液。分别精密吸取上述供试品溶液与阴性对照品溶液各 2 μ L、对照药材溶液与对照品溶液各 0.5 μ L,在同一硅胶 G 板底部一条直线上间隔点板后,放入以氯仿-甲醇-水(14:5:0.5, V:V:V)为展开剂的展开缸中,展开,取出,阴干,将 G 板置紫外光灯下,于 365 nm 波长下检视。结果见图 1 A。

五味子:取精细研磨的本品 4 g,置 25 mL Erlenmeyer 烧瓶中,加 15 mL 氯仿,超声处理 25 min,滤过,将滤液蒸发至干,加入 1 mL 氯仿溶解残渣,即得供试品溶液。取对照药材五味子 0.9 g,置 25 mL Erlenmeyer 烧瓶中,按供试品溶液制备方法制备对照药材溶液。取对照品五味子醇甲,用甲醇溶解成 1:1 的溶液,即得对照品溶液。以原方等比按配方工艺制成不含五味子的样品,按供试品溶液制备方法制备不含五味子的阴性对照品溶液。分别精密吸取上述供试品溶液与阴性对照品溶液各 5 μ L、对照药材溶液与对照品溶液各 2 μ L,在同一硅胶 G 板底部一条直线上间隔点板后,放入石油醚(30~60 $^{\circ}$ C)- $C_3H_6O_2$ -HCOOH(15:5:1, V:V:V)的上层溶液作为展开剂的展开缸中,取出阴干,将硅胶 G 板置紫外光灯下,于 254 nm 波长处检视。结果见图 1 B。

黄芩:取精细研磨的本品 3 g,精密称定,置 25 mL Erlenmeyer 烧瓶中,加 25 mL 甲醇,超声处理 45 min,滤过,将滤液蒸发至干,加入 1 mL 氯仿以溶解残渣,即得供试品溶液。以原方等比按配方工艺制成不含黄芩的样品,同法制备不含黄芩的阴性对照品溶液。取对照药材黄芩 0.9 g,置 25 mL Erlenmeyer 烧瓶中,依法制备对照药材溶液。取对照品黄芩苷,用甲醇溶解为 1:1 溶液,即得对照品溶液。分别精密吸取上述 4 种溶液各 3 μ L,在同一硅胶 G 板底部一条直线上,间隔点板后,放入以乙酸乙酯-丁酮-甲酸-水(10:7:1:1, V:V:V:V)为展开体系的展开缸中,展开,取出阴干,采用 2% 酸性三氯化铁乙醇溶液显色。结果见图 1 C。

2.2 葛根素含量测定^[11-13]

2.2.1 最佳吸收波长确定

取葛根素对照品溶液适量,置紫外分光光度计中,于 200~400 nm 波长范围内扫描,最大吸收均出现在 250 nm 波长附近,详见图 2。参考 2015 年版《中国药典(一部)》及相关文献中葛根素含量检测方法,最终确定检测波长为 250 nm。

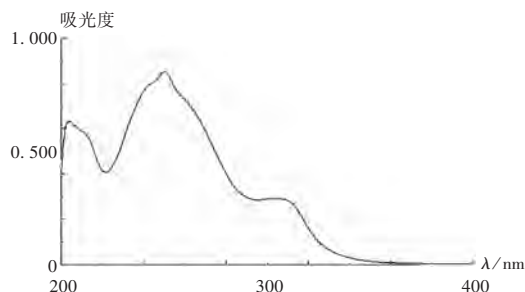


图2 葛根素紫外吸收光谱图

2.2.2 溶液制备

对照品溶液:取 0.002 g 对照品葛根素,精密称定,置 10 mL 容量瓶中,加甲醇超声溶解并定容,作为对照品贮备溶液。取 5 mL,置 25 mL 容量瓶中定容,即得。

供试品溶液:取样品(批号为 201801)内容物 0.5 g,精密称定,加入 20 mL 乙醇,于超声水浴中超声 15 min,放冷后滤过;药渣中加入 20 mL 乙醇再次超声 15 min,放冷,滤过;收集药渣,加入 20 mL 乙醇,超声 15 min,放冷,滤过;取 3 次提取液加入乙醇定容至 25 mL 容量瓶。吸取 5 mL,装入聚酰胺柱(80~100, 3 g, 内径 0.8~1.0 mm)上,用 50 mL 水洗脱,弃去水液,再以 30 mL 浓度为 70% 甲醇进行洗脱,将收集的洗脱液置蒸发皿中,蒸干,以 70% 甲醇溶解残渣定容至 25 mL。精密量取 2.5 mL,置 25 mL 容量瓶中,加水 5 mL,加浓度为 5% 的 $NaNO_2$ 1 mL,混匀,并静置 6 min 后,再加入浓度为 10% 的 1 mL $Al(NO_3)_3$,混匀,再次静置 6 min 后,加入 10 mL NaOH 试液,混匀,用水定容,即得。

2.2.3 方法学考察

阴性干扰试验:以原方等比按配方工艺制成不含葛根的样品,精密称取0.5 g,依法制成不含葛根的样品溶液,作为阴性样品溶液。采用紫外分光光度法进行扫描。结果显示,在250 nm波长下,阴性样品溶液吸光度较小,说明本方法不干扰葛根素成分的测定。

标准曲线制备:精密量取葛根素对照品溶液0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8 mL,定容至25 mL,依法于250 nm波长处测定吸光度,以吸光度为纵坐标(Y)、葛根素质量浓度为横坐标(X , g/L)进行线性回归,得回归方程 $Y = 67.858X + 0.1061$, $r = 0.9992$ ($n = 8$)。结果表明,葛根素质量浓度在0.003 2~0.011 2 g/L范围内与吸光度线性关系良好。

精密度试验:取0.002 g葛根素对照品,精密称定,依法制备对照品溶液,精密吸取4 mL对照品溶液定容至25 mL,在250 nm波长处测定吸光度,根据标准曲线计算质量浓度。结果平均质量浓度为0.006 5 g/L, RSD 为2.32% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

重复性试验:分别取6批样品,每份0.5 g,精密称定,依法制备供试品溶液,采用紫外分光光度法进行测定。结果葛根素平均含量为220.42 μ g, RSD 为2.54% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

稳定性试验:取样品(批号为201801)适量,依法制备供试品溶液,吸取适量,在0~12 h内每小时检测1次。结果葛根素平均含量为220.65 μ g, RSD 为1.29% ($n = 13$),表明供试品溶液在12 h内稳定。样品从提取至测定一般在2 h内即可全部完成,故所建立的检测方法可行。

加样回收试验:取样6份,每份0.5 g,精密称定,分别精密加入220.5 μ g/mL葛根素对照品溶液1 mL,依法制备供试品溶液,依法测定。结果见表1。

表1 葛根素加样回收试验结果($n = 6$)

取样量(g)	样品含量(μ g)	加入量(μ g)	测得量(μ g)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
0.506 3	220.86	220.5	437.81	98.39	100.80	2.46
0.506 5	220.56	220.5	439.03	99.08		
0.501 3	220.32	220.5	449.95	104.14		
0.502 1	219.98	220.5	437.94	98.85		
0.503 2	220.03	220.5	442.49	100.89		
0.504 1	220.16	220.5	448.27	103.45		

2.2.4 含量测定

取6批样品0.5 g,精密称定,依法制备供试品溶液,采用紫外分光光度法测定含量。结果见表2。

3 讨论

薄层色谱法广泛用于中药、中成药中标志性物质的检测,方法简单,准确度高。本研究中薄层展开剂比例多以《中国药典》要求为准,可重复性相对较高。葛根为处

表2 样品中葛根素含量测定结果($n = 6$)

批号	取样量(g)	含量(μ g)	$\bar{X}$ (μ g)	RSD (%)
201801	0.502 5	226.64	223.73	2.11
201802	0.502 3	229.81		
201803	0.504 2	219.99		
201804	0.505 0	225.65		
201805	0.502 6	223.56		
201806	0.504 5	216.78		

方中君药,主要活性成分为葛根素,故选择葛根素作为含量检测指标。葛根素属异黄酮类,是以苯色酮环为基础的一种酚类化合物,因此选用聚酰胺柱通过形成氢键的强弱进行分离纯化葛根素,发现聚酰胺柱参数为80~100,3 g,内径0.8~1.0 mm时,可达到理想效果。紫外分光光度法灵敏度相对较高,精密度试验、重复性试验及加样回收试验的 RSD 均小于3%,认为该方法简单可行。本研究前期进行了葛根单味药中葛根素的含量测定,不同产地的葛根素含量在3.0%~4.5%之间,差异较大,建议生产中购买品相上等的药材,严格控制投料药材的质量。

参考文献:

- [1] 丁楠,周惠芳.周惠芳治疗更年期综合征经验[J].中华中医药杂志,2018,33(8):3426-3428.
- [2] 王芳.红人归胶囊治疗更年期综合征的药效学研究[D].沈阳:沈阳药科大学,2007.
- [3] 彭莉,苏泽琦,赵保胜,等.滋阴安神方对实验性更年期模型大鼠的影响[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(15):137-142.
- [4] 韩亚光,张玉昆,孙思邈,等.固本安神胶囊提取工艺研究[J].化学工程师,2018,32(8):71-74.
- [5] 张玉昆,牛雯颖,姜广坤,等.淫羊藿对雌性大鼠双侧卵巢摘除模型的影响[J].中医药学报,2016,44(3):24-26.
- [6] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(四部)[M].北京:中国医药科技出版社,2015:57.
- [7] 王新雨,李岩,唐浩,等.HPLC同时测定葛兰心宁软胶囊中5种异黄酮成分的含量[J].中药新药与临床药理,2018,29(4):479-482.
- [8] 黄艳,罗定强,李青,等.乙型肝炎胶囊质量标准改进研究[J].中国药业,2018,27(21):31-34.
- [9] 王桂梅,谢君.清肝宁颗粒的质量标准研究[J].中国药物与临床,2018,18(11):2032-2033.
- [10] 李柯,陈丹,李若存,等.复方益母胶囊质量标准提高研究[J].中国药业,2017,26(15):16-19.
- [11] 宋志钊,刘元,文志云.紫外分光光度法测定石淋通分散片中芦丁的含量[J].中国民族民间医药,2013,22(7):19.
- [12] 邵留英,瞿发林,董文燊,等.复方芍甘颗粒质量标准研究[J].中国药业,2018,27(17):21-24.
- [13] 李丹.葛根素注射液含量测定、体内代谢及其对CYP2E1活性的影响[D].郑州:河南大学,2014.

(收稿日期:2018-11-29)