

· 实验研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.17.003

心脉通软胶囊的质量控制及稳定性考察*

郑林, 刘丽娜, 李月婷, 李勇军, 黄勇, 王永林, 兰燕宇[△]

(贵州医科大学·贵州省药物制剂重点实验室/药用植物功效与利用国家重点实验室·民族药与中药开发应用教育部工程研究中心, 贵州 贵阳 550004)

摘要:目的 建立心脉通软胶囊的质量控制方法,考察其稳定性。方法 采用薄层色谱法鉴别心脉通软胶囊中的荭草、山楂叶和三七;采用高效液相色谱法对君药荭草中的异荭草素、荭草素进行含量测定;运用加速试验和长期试验方法对心脉通软胶囊的稳定性进行考察。结果 薄层色谱法均检出了心脉通软胶囊中的主要药材,异荭草素、荭草素的质量浓度分别在11.05~88.40 μg/mL($r=0.9999$)和10.83~86.60 μg/mL($r=0.9997$)范围内与峰面积积分值线性关系良好,且3批心脉通软胶囊经6个月加速试验和24个月长期试验考察,各项指标均符合质量标准要求。结论 心脉通软胶囊质量可控,稳定性好。

关键词:心脉通软胶囊;质量控制;稳定性;薄层色谱法;高效液相色谱法

中图分类号:R932.1;R284.1;R286.0

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2019)17-0011-04

Quality Control and Stability of Xinmaitong Soft Capsules

ZHENG Lin, LIU Lina, LI Yueting, LI Yongjun, HUANG Yong, WANG Yonglin, LAN Yanyu

(Guizhou Medicine University, Guizhou Provincial Key Laboratory of Pharmaceutics, State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants, Engineering Research Center for the Development and Application of Ethnic Medicine and TCM <Ministry of Education>, Guiyang, Guizhou, China 550004)

Abstract: Objective To establish a quality control method for Xinmaitong Soft Capsules and investigate its stability. **Methods** The *Polygonum orientale*, *Crataegi Folium* and *Notoginseng Radix et Rhizoma* in Xinmaitong Soft Capsules were identified by TLC method, the content of isogenistin and urticarin in *Polygonum orientale* was determined by HPLC method, and the stability of Xinmaitong Soft Capsule was studied by accelerated test and long-term test. **Results** The main medicinal materials in Xinmaitong Soft Capsules all could be detected by TLC method. The isorientin and orientin showed good linear relationship with peak area in the ranges of 11.05–88.40 μg/mL($r=0.9999$) and 10.83–86.60 μg/mL($r=0.9997$). After 6 months of accelerated test and 24 months of long-term test, all the indexes of three batches of Xinmaitong Soft Capsules met the requirements of quality standards. **Conclusion** Xinmaitong Soft Capsules have controllable quality and good stability.

Key words: Xinmaitong Soft Capsules; quality control; stability; TLC; HPLC

心脉通软胶囊具有活血化瘀、通脉止痛的功效,临床用于冠心病心绞痛心血瘀阻所致胸痹心痛证,症见胸

*基金项目:国家自然科学基金[81360664];贵州省科技计划项目[黔科合平台人才[2017]5601;[2016]5613;[2016]5677];贵阳市科研创新团队项目[筑科合同[2017]30-29号]。

第一作者:郑林,女,博士研究生,教授,研究方向为中药质量控制及新药开发,(电话)0851-86908468(电子信箱)mailofzl@126.com。

[△]通信作者:兰燕宇,女,大学本科,教授,研究方向为中药质量控制及新药开发,(电话)0851-86908468(电子信箱)yanyu626@126.com。

~~~~~

中医药信息,2018,35(2):83-87.

17(2):63-65.

[7] 陈勇,陈涛,高永翔,等. 风湿定胶囊对类风湿关节炎大鼠滑膜组织 JAK/STAT 信号通路的影响[J]. 中国中医急症, 2018,27(9):1522-1526.

[11] MALEMUD CJ. The role of the JAK/STAT signal pathway in rheumatoid arthritis[J]. Ther Adv Musculoskelet Dis, 2018,10(5): 117-127.

[8] GAFAFAR AGA, MESSIHA BAS, ABDELKAFY AML, et al. Nicorandil and theophylline can protect experimental rats against complete Freund's adjuvant-induced rheumatoid arthritis through modulation of JAK/STAT/RANKL signaling pathway[J]. Eur J Pharmacol, 2018,5(822):177-185.

[12] MCGARRY T, ORR C, WADE S, et al. JAK/STAT Blockade Alters Synovial Bioenergetics, Mitochondrial Function, and Proinflammatory Mediators in Rheumatoid Arthritis[J]. Arthritis Rheumatol, 2018,70(12):1959-1970.

[9] 杨馨,刘旭光,王月,等. 艾灸对类风湿性关节炎家兔滑膜细胞 JAK-STAT 通路负反馈调节家族细胞因子信号抑制因子的影响[J]. 针刺研究,2013,38(2):129-133.

[13] 纪前前,郭伟伟,张倩倩,等. JAK 抑制剂在类风湿性关节炎治疗中的研究进展[J]. 中国药房,2016,27(5):711-713.

[10] 张晓园,王永辉,李艳彦,等. JAK-STAT 信号转导通路在类风湿性关节炎中的研究进展[J]. 山西中医学院学报,2016,

[14] 蒋耀平,肖敬,赵先锋,等. 壮医药线灸联合甲氨蝶呤对佐剂关节炎大鼠 NF-κB/IκB 信号通路的影响[J]. 中医药学报,2018,46(5):18-24.

(收稿日期:2018-12-27)

闷、胸部刺痛,固定不移,心悸不宁,现已进入Ⅱ期临床试验。其由荭草、山楂叶、三七等多味中药组方,主药为荭草,有效成分异荭草素、荭草素具有抗氧化、抗凝血、抗菌等作用<sup>[1-3]</sup>,为荭草中主要活性成分。为有效控制该制剂的质量,本试验中建立了方中荭草、山楂叶和三七鉴别的薄层色谱法和异荭草素、荭草素含量测定的高效液相色谱法,并考察了心脉通软胶囊的稳定性。

## 1 仪器与试剂

仪器:LC-10Avp型高效液相色谱仪(日本岛津公司);WD-A型药物稳定性检查仪(天津药典标准仪器厂);AE2401型电子天平(十万分之一,梅特勒-托利多仪器上海有限公司);WP-UP-II-20型超纯水机(四川沃特科技发展有限公司);CX-250型超声波清洗器(功率为250 W,频率为27~34 kHz,北京医疗设备二厂)。

试药:荭草对照药材经贵州医科大学药学院药用植物学与生药学教研室龙庆德副教授鉴定为正品,山楂叶对照药材(批号为121340-200601)、三七对照药材(批号为120941-200807)均购自中国食品药品检定研究院;异荭草素对照品、荭草素对照品(贵州医科大学药物研究开发中心用荭草药材制备,纯度大于98%);心脉通软胶囊(贵州医科大学药物研究开发中心提供,批号为20120706,20120715,20120724);乙腈为色谱纯;其他试剂均为分析纯;硅胶G预制板(青岛海洋化工厂)。

## 2 方法与结果

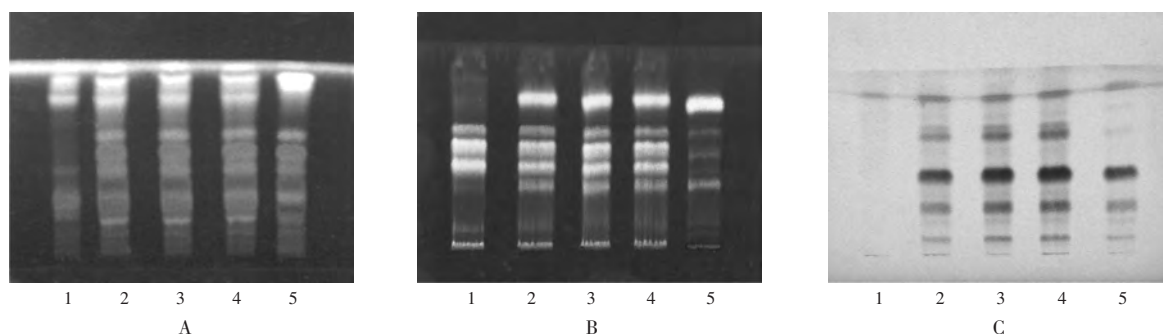
### 2.1 薄层色谱鉴别<sup>[4-7]</sup>

荭草:取本品内容物0.3 g,加乙醚10 mL,超声(功率为220 W,频率为50 kHz)处理5 min,滤过,弃滤液,滤渣挥干乙醚,加水15 mL溶解,用乙酸乙酯萃取2次,每次20 mL,合并乙酸乙酯液,挥干,残渣加甲醇1 mL溶解,作为供试品溶液;另取荭草对照药材1 g,加乙醇30 mL,加热回流1 h,滤过,挥干,残渣加水15 mL,用乙酸乙酯萃取2次,每次20 mL,合并乙酸乙酯液,挥干,残渣加甲醇1 mL溶解,作为对照药材溶液;再按其处方工艺制

备不含荭草的阴性样品,照供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。照薄层色谱法[2015年版《中国药典(四部)》通则0502]试验,吸取上述3种溶液各2 μL,分别条带状点于同一硅胶G薄层板上,以乙酸乙酯-甲酸-水(10:0.25:0.25, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,于105℃加热至斑点显色清晰,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点,且阴性对照无干扰。结果见图1 A。

山楂叶:取本品内容物0.2 g,加乙醚10 mL,超声(功率为220 W,频率为50 kHz)处理5 min,滤过,弃滤液,滤渣挥干乙醚,沉淀加甲醇10 mL,漩涡混匀,滤过,滤液作为供试品溶液;取山楂叶对照药材0.2 g,加乙醇30 mL,加热回流1.5 h,滤过,挥干,残渣加水15 mL,用石油醚(60~90℃)20 mL萃取,下层液用乙酸乙酯萃取2次,每次20 mL,合并上层液,挥干,残渣加甲醇1 mL溶解,作为对照药材溶液;再按其处方工艺制备不含山楂叶的阴性样品,照供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。照薄层色谱法[2015年版《中国药典(四部)》通则0502]试验,吸取上述3种溶液各2 μL,分别条带状点于同一聚酰胺薄膜上,以乙醇-水(2:1, V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以三氯化铝试液,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相应的位置上显相同颜色的荧光斑点,且阴性对照无干扰。结果见图1 B。

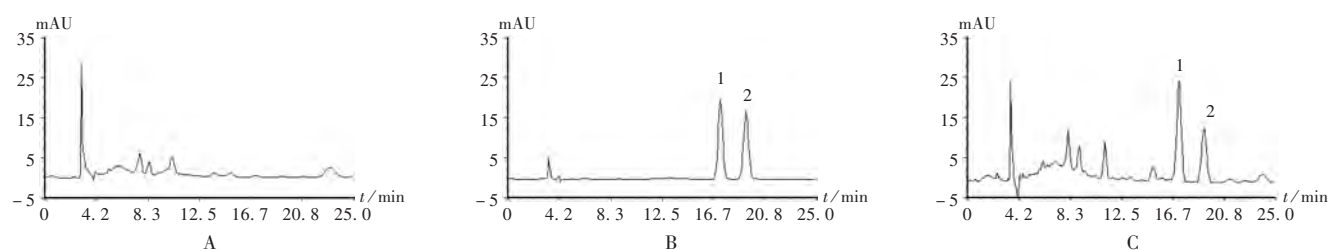
三七:取本品内容物0.25 g,加乙醚10 mL,超声(功率为220 W,频率为50 kHz)处理5 min,滤过,弃滤液,滤渣挥干乙醚,加氨试液5 mL溶解,用正丁醇萃取2次,每次5 mL,合并上层溶液,加水5 mL,振摇提取,取上层液,挥干,残渣加甲醇1 mL溶解,作为供试品溶液;取三七对照药材0.5 g,加水5 mL,加正丁醇5 mL,振摇提取,取上层液,加水15 mL,振摇提取,取上层液挥干,残渣加甲醇1 mL溶解,作为对照药材溶液;再按其处方工艺制备不含三七的阴性样品,照供试品溶液制



1. 阴性对照品溶液 2~4. 供试品溶液 5. 对照药材溶液

A. 荭草 B. 山楂叶 C. 三七

图1 薄层色谱图



1. 异荭草素 2. 荭草素  
A. 阴性对照品溶液 B. 对照品溶液 C. 供试品溶液  
图2 高效液相色谱图

备方法制备阴性对照品溶液。照薄层色谱法[2015年版《中国药典(四部)》通则 0502]试验,吸取上述3种溶液各5  $\mu\text{L}$ ,分别条带状点于同一硅胶G薄层板上,以氯仿-甲醇-水(65:30:10, V/V/V)的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以10%硫酸乙醇溶液,于115  $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰,置日光下检视。供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点,且阴性对照无干扰。结果见图1C。

## 2.2 异荭草素和荭草素含量测定<sup>[8-9]</sup>

### 2.2.1 色谱条件

色谱柱:Diamonsil C<sub>18</sub>柱(250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ );流动相:乙腈-0.1%磷酸溶液(15:85, V/V);检测波长:350 nm;柱温:35  $^{\circ}\text{C}$ ;流速:1.0 mL/min。

### 2.2.2 溶液制备

称取异荭草素、荭草素对照品适量,精密称定,加甲醇溶解并稀释,制成质量浓度分别为221.0, 216.5  $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液。取装量差异项下的本品内容物3 g,精密称定,加乙醚10 mL,超声(功率为220 W,频率为50 kHz)处理5 min,弃乙醚液,沉淀加50%乙醇适量溶解后转移至50 mL容量瓶中,加50%乙醇至刻度,摇匀,经0.45  $\mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。按处方比例制成缺荭草的阴性样品,按2.3项下方法制得阴性对照品溶液。

### 2.2.3 方法学考察

专属性试验:精密吸取对照品溶液、阴性对照品溶液及供试品溶液各10  $\mu\text{L}$ ,按拟订色谱条件测定,记录色谱图。结果,在对照品溶液和供试品溶液色谱图相应位置上,异荭草素、荭草素分别有相同保留时间的色谱峰,且阴性对照无干扰。详见图2。

线性关系考察:精密量取对照品贮备液0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 mL,分别置10 mL容量瓶中,加甲醇稀释至刻度,进样测定,绘制工作曲线,计算得异荭草素、荭草素的线性回归方程分别为 $Y_{\text{异}} = 23\,472\,860 X_{\text{异}} - 5\,714$  ( $r = 0.999\,9$ ,  $n = 5$ ),  $Y_{\text{荭}} = 21\,909\,536 X_{\text{荭}} + 2\,195$  ( $r = 0.999\,7$ ,  $n = 5$ )。结果表明,异荭草素和荭草素

的质量浓度分别在11.05~88.40  $\mu\text{g/mL}$ 和10.83~86.60  $\mu\text{g/mL}$ 范围内与峰面积积分值线性关系良好。

精密度试验:取同一供试品,依法制得供试品溶液,重复进样5次,记录色谱图。结果异荭草素和荭草素峰面积的RSD分别为1.52%和0.63% ( $n = 5$ ),表明仪器精密度高。

稳定性试验:取同一供试品溶液,分别于0, 1, 2, 4, 8 h时进样测定,记录色谱图。结果异荭草素和荭草素峰面积的RSD分别为1.69%和1.23% ( $n = 5$ ),表明供试品溶液在8 h内稳定。

重复性试验:取同一供试品,依法制备5份供试品溶液,分别进样,记录色谱图。结果异荭草素平均含量分别为0.287 2%和0.178 8%, RSD分别为1.53%和1.83% ( $n = 5$ ),表明方法重复性良好。

加样回收试验:精密称取已知含量的供试品(异荭草素和荭草素含量分别为0.287 2%和0.178 8%),分别精密加入异荭草素和荭草素对照品适量,依法制备供试品溶液,按色谱条件进样测定,记录色谱图,计算回收率。结果见表1。

## 2.3 稳定性考察<sup>[10-11]</sup>

各项检验项目的质量标准:见表2。

加速试验:取模拟上市包装样品,置温度( $40 \pm 2$ ) $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度( $75 \pm 5$ )%条件下贮藏,分别于0, 1, 2, 3, 6个月取样,照心脉通软胶囊质量标准检测。结果3批样品经加速试验6个月考察,外观性状、装量差异、崩解时限、微生物限度等各项检测指标均符合规定;3批样品中异荭草素和荭草素含量之和分别为4.25, 4.33, 4.14, 4.15, 4.10 mg/粒(批号为20120706); 3.56, 3.71, 3.65, 3.56, 3.51 mg/粒(批号为20120715); 3.78, 3.69, 3.89, 3.68, 3.63 mg/粒(批号为20120724)。制剂中异荭草素和荭草素含量无明显变化,且均能检出荭草、山楂叶和三七,符合质量标准要求。

长期试验:取模拟上市包装样品,置室温条件下贮藏,在0, 3, 6, 12, 18, 24个月取样,照心脉通软胶囊质量标准检测。结果经24个月长期试验考察,样品外观性

表1 加样回收试验结果( $n=9$ )

| 取样量<br>(mg) | 样品含量(mg) |         | 加入量(mg) |         | 测得量(mg) |         | 回收率(%) |        | $\bar{X}$ (%) |       | RSD(%) |      |
|-------------|----------|---------|---------|---------|---------|---------|--------|--------|---------------|-------|--------|------|
|             | A        | B       | A       | B       | A       | B       | A      | B      | A             | B     | A      | B    |
| 0.150 4     | 0.431 9  | 0.268 9 | 0.338 9 | 0.207 0 | 0.758 3 | 0.470 6 | 96.31  | 97.44  |               |       |        |      |
| 0.155 6     | 0.446 9  | 0.278 2 | 0.338 9 | 0.207 0 | 0.781 6 | 0.475 6 | 98.76  | 95.36  |               |       |        |      |
| 0.146 3     | 0.420 2  | 0.261 6 | 0.338 9 | 0.207 0 | 0.758 9 | 0.466 7 | 99.94  | 99.08  |               |       |        |      |
| 0.161 1     | 0.462 7  | 0.288 0 | 0.423 6 | 0.258 8 | 0.869 8 | 0.551 3 | 96.10  | 101.74 |               |       |        |      |
| 0.142 7     | 0.409 8  | 0.255 1 | 0.423 6 | 0.258 8 | 0.840 9 | 0.511 0 | 101.77 | 98.88  | 98.33         | 98.15 | 1.79   | 1.98 |
| 0.153 9     | 0.442 0  | 0.275 2 | 0.423 6 | 0.258 8 | 0.858 7 | 0.524 2 | 98.37  | 96.21  |               |       |        |      |
| 0.153 0     | 0.439 4  | 0.273 6 | 0.508 3 | 0.310 6 | 0.935 2 | 0.580 5 | 97.54  | 98.81  |               |       |        |      |
| 0.160 7     | 0.461 5  | 0.287 3 | 0.508 3 | 0.310 6 | 0.957 6 | 0.595 4 | 97.60  | 99.20  |               |       |        |      |
| 0.155 2     | 0.445 7  | 0.277 5 | 0.508 3 | 0.310 6 | 0.946 8 | 0.577 5 | 98.58  | 96.59  |               |       |        |      |

注:A为异荭草素,B为荭草素。

表2 各项检验项目的标准

| 检验项目      | 质量标准规定                                           |
|-----------|--------------------------------------------------|
| 外观性状      | 本品为软胶囊剂,内容物为棕褐色的膏状物;气芳香,味苦                       |
| 鉴别        | 薄层色谱中应检出荭草、山楂叶、三七药材                              |
| 装量差异      | 限度在 $\pm 10.0\%$ 内,超出装量差异限度的不得多于2粒,并不得有1粒超出限度的1倍 |
| 崩解时限(min) | 应在1h内全部崩解                                        |
| 微生物限度     | 细菌数不得过10 000 cfu/g,霉菌数不得过100 cfu/g,大肠埃希菌和活端均不得检出 |
| 含量(mg/粒)  | 每粒含荭草以异荭草素和荭草素的总量计,不得少于0.25 mg                   |

状、装量差异、崩解时限、微生物限度等各项检测指标均符合规定;3批样品中异荭草素和荭草素含量之和分别为4.25,4.10,4.19,4.31,4.14,4.13 mg/粒(批号为20120706),3.56,3.48,3.71,3.60,3.47,3.48 mg/粒(批号为20120715),3.78,3.91,3.95,3.82,3.72,3.77 mg/粒(批号为20120724)。制剂中异荭草素和荭草素含量无明显变化,且均能检出荭草、山楂叶和三七,符合质量标准要求。

### 3 讨论

采用薄层色谱法对心脉通软胶囊中的荭草、山楂叶和三七药材进行定性鉴别,在薄层色谱中分别检出荭草、山楂叶和三七的特征斑点,斑点分离清晰,阴性对照无干扰,专属性强,重复性好,可作为心脉通软胶囊有效的定性鉴别方法。

采用高效液相色谱法测定制剂中异荭草素和荭草素时,由于本品为软胶囊,含有大豆油,为避免污染色谱柱,样品不能直接溶解进样。异荭草素、荭草素为黄酮类化合物,能溶于乙醇等极性溶剂,而不溶于非极性有机溶剂,在供试品溶液制备方法研究过程中,分别采用了石油醚、乙醚、氯仿等溶剂去除样品中油脂类物质,结果表明采用乙醚去除油脂操作简便,效果较好。

在样品稳定性考察试验中,根据《原料药物与制剂

稳定性试验指导原则》[2015年版《中国药典(四部)》指导原则9001],取3批市售制剂,进行加速试验和长期试验考察,除荭草、山楂叶和三七药材的薄层鉴别,以及异荭草素和荭草素的含量测定外,还分别考察了外观性状、崩解时限、微生物限度,均符合质量标准要求。说明本品在24个月内质量稳定,直接接触药品的容器对药品质量无影响,故心脉通软胶囊的有效期暂定为24个月,为控制药品质量及确定药品贮存条件提供了科学依据。

### 参考文献:

- [1] 付晓春,杨群华,汪小根,等. 荭草苷对大鼠血液流变学及胆固醇酯小鼠血清胆固醇的影响[J]. 中国医院药学杂志, 2007,27(1):16.
- [2] 黄秀兰,刘丹妮,刘立亚,等. 荭草苷对大鼠急性心肌梗塞的保护作用及机制研究[J]. 药物评价研究,2012,35(6):412.
- [3] 袁 莉,吴雨晨,任晓萌,等. 荭草素和异荭草素抗氧化活性及对肝癌细胞增殖的影响[J]. 食品科学技术学报,2013,31(6):21-27.
- [4] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药材质量标准[M]. 贵阳:贵州科技出版社,2003:267.
- [5] 马坤芳,王德旺,孙荣斌. 山楂叶质量标准提高的研究[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2008,28(11):1451.
- [6] 李勇军,夏 彬,何 迅,等. 荭叶心通软胶囊的薄层色谱鉴别[J]. 中国药业,2011,20(7):22-23.
- [7] 花晓薇,李 岩,程雪梅,等. 蓝红胶囊中三七的质量控制方法[J]. 中成药,2014,36(7):1497-1499.
- [8] 万先伦,马 琳,王永林,等. HPLC测定荭叶心通软胶囊中异荭草素、荭草素的含量[J]. 中国中药杂志,2007,32(16):1722-1723.
- [9] 李桂兰,张桂青,刘丽娜. 高效液相色谱法同时测定金莲花胶囊中4种成分的含量[J]. 中国医院药学杂志,2013,33(24):2040.
- [10] 王柏强,刘 福,江承平,等. 杜仲叶提取物滴丸质量控制及稳定性考察[J]. 中国药业,2015,24(12):19-21.
- [11] 谢元春,郑 林,李勇军,等. 妇科止带胶囊的稳定性考察[J]. 中国药房,2016,27(12):1661-1663.

(收稿日期:2019-03-21)