

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.16.025

彝心康胶囊质量标准提升研究

覃媛媛¹, 杨宗荣², 罗艳珠¹, 温吉星¹

(1. 云南省楚雄彝族自治州食品药品检验所, 云南 楚雄 675000; 2. 云南龙发制药股份有限公司, 云南 楚雄 675000)
摘要:目的 提升彝心康胶囊的质量标准。方法 采用薄层色谱(TLC)法对彝心康胶囊中的鸡血藤、灯盏细辛进行定性鉴别;采用高效液相色谱(HPLC)法同时测定虎杖中虎杖苷和灯盏细辛中野黄芩苷的含量,色谱柱为 Agilent Zorbax SB-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-0.2% 磷酸溶液(14:86, V/V),流速为 1.0 mL/min,检测波长为 335 nm,柱温为 35℃,进样量为 10 μL。结果 鸡血藤、灯盏细辛的 TLC 图特征斑点显色清晰,分离度好,阴性对照无干扰。虎杖苷、野黄芩苷质量浓度分别在 0.112~1.676 μg($R^2=0.999\ 2$, $n=6$)和 0.040~0.605 μg($R^2=0.999\ 5$, $n=6$)范围内与峰面积线性关系良好;精密性、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 2%;平均加样回收率分别为 98.30% 和 99.48%, RSD 分别为 0.68% 和 0.66% ($n=6$)。结论 所建立的 TLC 法专属性强、灵敏度高, HPLC 法简便可行,结果准确、可靠,重复性、稳定性好,可用于彝心康胶囊的质量控制。

关键词:彝心康胶囊;质量标准;鸡血藤;虎杖;灯盏细辛;薄层色谱法;高效液相色谱法

中图分类号:R932;R286.0

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2021)16-0095-04

Improvement of Quality Standard of Yixinkang Capsules

QIN Yuanyuan¹, YANG Zongrong², LUO Yanzhu¹, WEN Jixing¹

(1. Chuxiong Institute for Food and Drug Control, Chuxiong, Yunnan, China 675000; 2. Yunnan Longfa Pharmaceutical Co., Ltd., Chuxiong, Yunnan, China 675000)

Abstract: Objective To improve the quality standard of Yixinkang Capsules. **Methods** *Spatholobus suberectus* and *Erigeron breviscapus* in Yixinkang Capsules were identified by the thin-layer chromatography(TLC) method. The contents of polydatin in *Polygonum cuspidatum* and scutellarin in *Erigeron breviscapus* were determined by the high-performance liquid chromatography(HPLC) method, the chromatographic column was Agilent Zorbax SB-C₁₈ column(250 mm×4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile-0.2% phosphoric acid solution(14:86, V/V), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 335 nm, the column temperature was 35℃, and the injection volume was 10 μL. **Results** The TLC characteristic spots of *Spatholobus suberectus* and *Erigeron breviscapus* were clear with good separation, and the negative control had no interference. The linear ranges of polydatin and scutellarin were 0.112-1.676 μg($R^2=0.999\ 2$, $n=6$), 0.040-0.605 μg($R^2=0.999\ 5$, $n=6$). The RSDs of precision, stability and repeatability tests were less than 2%. The average recoveries of polydatin and scutellarin were 98.30% and 99.48% with RSDs of 0.68% and 0.66% ($n=6$), respectively. **Conclusion** The TLC method has strong specificity, high sensitivity, and the HPLC method is simple and feasible, accurate and reliable with good repeatability and stability, which can be used for the quality control of Yixinkang Capsules.

Key words: Yixinkang Capsules; quality standard; *Spatholobus suberectus*; *Polygonum cuspidatum*; *Erigeron breviscapus*; TLC; HPLC

彝心康胶囊由鸡血藤、灯盏细辛、五气朝阳草、透骨草等 7 味中药材经提取制成的彝药制剂,功效为理气活血、通经止痛(彝医称为乌诺衣诺、四乃土),临床用于治疗气滞血瘀所致胸痹心痛、心悸怔忡,以及冠心病、缺血

性脑血管病见上述症状者。其现行标准为国家药品监督管理局标准[WS-10277(ZD-0277)-2002],鉴别项下仅有姜黄及木香的薄层鉴别,含量项下仅有虎杖中大黄素的含量测定。本研究中新增薄层色谱(TLC)法对鸡血

第一作者:覃媛媛,女,大学本科,主管药师,研究方向为药物分析与药品质量,(电子信箱)273885620@qq.com。

- 鼠肝纤维化的作用及机制研究[J]. 临床医学实践,2019,28(12):920-921.
- [6] 赵雯宇,司富春. 瓜蒂水提物和醇提物对食管癌 TE-1、EC-1 细胞的增殖、迁移、克隆形成的影响及机制研究[J]. 中国药房,2020,31(3):314-320.
- [7] 刘钰莹,马越,赵晓燕,等. 植物资源中葫芦素类化合物的分布[J]. 农产品加工,2017(10):75-78.
- [8] 王莉梅,姚铭. 葫芦素类化合物含量测定方法的研究进展[J]. 中国生化药物杂志,2015,35(1):185-188.
- [9] 冯淑萍. 甜瓜蒂提取工艺研究[J]. 中国药事,2014,28(6):614-617.
- [10] 赵春燕,刘钰莹,马越,等. 超声辅助提取西瓜藤中葫芦素 B 工艺的优化[J]. 食品工业科技,2016,37(19):197-201.
- [11] 姜怀利. 葫芦素 B 的检验方法研究[J]. 检验检疫学刊,2019,29(3):102-103.
- [12] 郭梦鸿,孙玉琦,刘影,等. 葫芦科植物药材中葫芦素类成分的含量差异[J]. 中国医院药学杂志,2015,35(17):1554-1558.
- [13] 张岩岩,王冬. 响应面优化瓜蒌中葫芦素提取工艺及其抑菌研究[J]. 食品工业,2019,40(6):169-173.
- (收稿日期:2020-11-02;修回日期:2021-02-01)

藤和灯盏细辛进行定性鉴别,采用高效液相色谱(HPLC)法同时测定虎杖中虎杖苷和灯盏细辛中野黄芩苷含量,旨在提升其质量标准。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

1100 型高效液相色谱仪,含 VWD 检测器(美国 Agilent 公司);BP211D 型电子分析天平(德国赛多利斯电子公司,精度为 0.01 mg);MS304 TS/02 型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司,精度为 0.1 mg);GoodLook-1000 型薄层色谱成像系统(上海科哲生化科技有限公司);ELGA 超纯水机(法国威立雅公司);SB25-12DTD 型超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司);薄层预制 G 板(青岛海洋化工厂分厂、烟台市化学工业研究所、德国 Merck 公司)。

1.2 试药

芒柄花素对照品(批号 111703-201504,供鉴别用),虎杖苷对照品(批号为 111575-201603,含量为 87.3%),野黄芩苷对照品(批号为 110758-201616,含量为 91.7%),鸡血藤对照药材(批号为 121173-201805),灯盏细辛对照药材(批号为 121269-201103),均购自中国食品药品检定研究院;彝心康胶囊(批号分别为 180501,180502,180503,180504,180901,180902,180903,180904,181001,181002),阴性样品,均购自云南龙发制药股份有限公司;乙腈、甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别

鸡血藤:取样品内容物 1.5 g,精密称定,加乙醇 40 mL,超声(功率 200 W,频率 40 kHz,下同)处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 10 mL 使溶解,用乙酸乙酯 10 mL 振摇提取,乙酸乙酯液蒸干,残渣加甲醇 5 mL 使溶解,经中性氧化铝柱(中性氧化铝 200~300 目,5 g,内径为 1.5 cm,干法装柱),用 80% 甲醇 60 mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取鸡血藤对照药材 1 g,加水 50 mL,煎煮 30 min,滤过,滤液加乙酸乙酯振摇提取 3 次,每次 20 mL,合并乙酸乙酯液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为对照药材溶液。取芒柄花素对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的对照品溶液。取缺鸡血藤的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。照 TLC 法试验,精密吸取供试品溶液、阴性对照品溶液和对照药材溶液各 4 μ L,对照品溶液 1 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-甲醇(20:1, V/V)为展开剂,预饱和 15~30 min,展开,取出,晾干,置氨气中熏后,在紫外光(254 nm)灯下检视。供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱和对照品溶液色谱相应位置上显相同

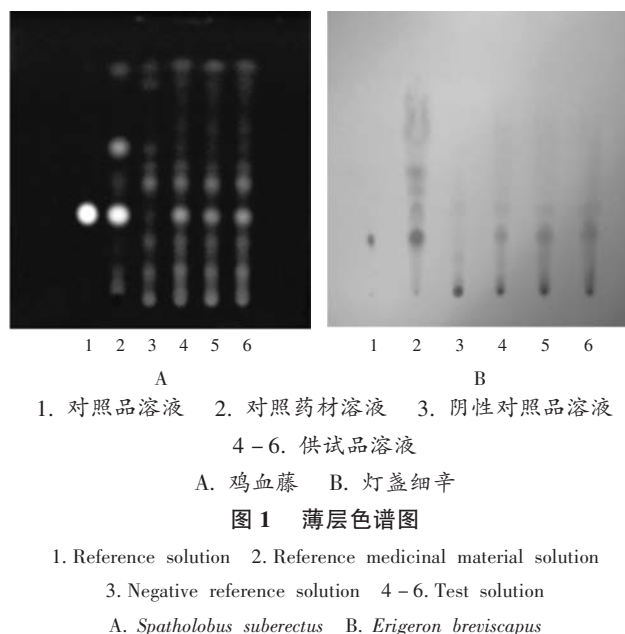


Fig. 1 TLC chromatograms

颜色的荧光斑点,阴性对照无干扰,详见图 1 A。

灯盏细辛:取样品内容物 1.5 g,精密称定,加 0.2% 碳酸氢钠溶液 15 mL,浸泡过夜,滤过,滤液用稀硫酸调 pH 至 3.0,加无水甲醇 20 mL,加热回流 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 10 mL 使溶解,用正丁醇振摇提取 2 次,每次 10 mL,合并正丁醇液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取灯盏细辛对照药材 1 g,同其供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。取野黄芩苷对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的对照品溶液。取缺灯盏细辛的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液,照 TLC 法试验,吸取上述 4 种溶液各 1 μ L,分别点于同一聚酰胺薄膜上,以冰醋酸为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 1% 三氯化铁乙醇溶液。供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱和对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的荧光斑点,阴性对照无干扰,详见图 1 B。

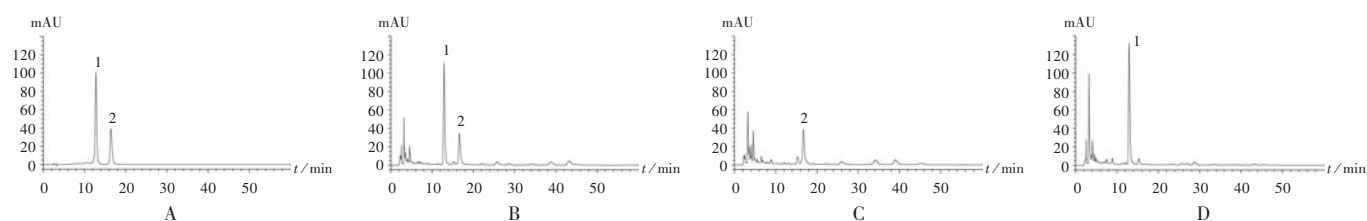
2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件

色谱柱:Agilent Zorbax SB-C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m);流动相:乙腈-0.2% 磷酸溶液(14:86, V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:335 nm;柱温:35 $^{\circ}$ C;进样量:10 μ L。

2.2.2 溶液制备

取虎杖苷和野黄芩苷对照品各适量,精密称定,加 50% 甲醇制成每 1 mL 含野黄芩苷 40.348 μ g 和虎杖苷 111.744 μ g 的混合对照品溶液。取样品内容物 0.3 g,精密称定,置锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇 25 mL,密塞,称定质量,超声处理 30 min,放冷,再次称定质量,用 50% 甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,即得供试品溶



1. 虎杖苷 2. 野黄芩苷
A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 缺虎杖阴性对照品溶液 D. 缺灯盏细辛阴性对照品溶液

图2 高效液相色谱图

1. polydatin 2. scutellarin

A. Reference solution B. Test solution C. Negative reference solution lacking *Polygonum cuspidatum* D. Negative reference solution lacking *Erigeron breviscapus*

Fig. 2 HPLC chromatograms

液。分别取不含虎杖药材和不含灯盏细辛药材的阴性样品,按供试品溶液制备方法分别制成阴性对照品溶液。

2.2.3 方法学考察

专属性和系统适用性试验:分别精密吸取混合对照品溶液、供试品溶液、缺虎杖的阴性对照品溶液、缺灯盏细辛的阴性对照品溶液各 10 μ L,按 2.2.1 项下色谱条件进样测定。结果供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应位置上有相同色谱峰,且主峰与相邻色谱峰能完全分离,峰形良好,阴性对照无干扰;理论板数以虎杖苷峰和野黄芩苷峰计应不低于 5 000,分离度均大于 1.5,基线分离良好。详见图 2。

线性关系考察:精密吸取混合对照品溶液 1, 2, 3, 5, 10, 15 μ L,按 2.2.1 项下色谱条件进样测定。以峰面积为纵坐标(Y)、进样量为横坐标(X)进行线性回归,得虎杖苷回归方程 $Y_1 = 2\,017.363 X_1 + 182.490$ ($R^2 = 0.999\,2$, $n = 6$),野黄芩苷回归方程 $Y_2 = 2\,844.953 X_2 + 44.924$ ($R^2 = 0.999\,5$, $n = 6$)。结果表明,虎杖苷和野黄芩苷进样量分别在 0.112 ~ 1.676 μ g 和 0.040 ~ 0.605 μ g 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:精密吸取混合对照品溶液 10 μ L,按 2.2.1 项下色谱条件重复进样 6 次。结果虎杖苷和野黄芩苷平均峰面积分别为 2 675.672 和 1 274.369, RSD 分别为 0.68% 和 0.38% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取混合对照品溶液和供试品(批号为 180501)溶液,室温下按 2.2.1 项下色谱条件分别于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h 时进样测定,记录色谱图。结果混合对照品溶液和供试品溶液中虎杖苷和野黄芩苷峰面积的 RSD 分别为 0.40% 和 0.32%, 1.33% 和 1.19% ($n = 8$),表明 2 种溶液室温下 24 h 内均稳定。

重复性试验:取同一批(批号为 180501)样品内容物 6 份,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,以 2.2.1 项下色谱条件进样测定。结果虎杖苷和野黄芩苷平均含量分别为 8.351 5 mg/g 和 2.657 6 mg/g, RSD 分别为 0.63% 和 0.35% ($n = 6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:精密称取已知含量的样品(批号

180501)内容物 6 份,每份 0.15 g,精密加入相当于样品中所含虎杖苷和野黄芩苷量 100% 的对照品贮备液,按 2.2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件进样测定,计算加样回收率。结果见表 1。

表 1 加样回收试验结果 ($n = 6$)

Tab. 1 Results of the recovery test ($n = 6$)

成分	取样量 (g)	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
虎杖苷	0.151 8	1.267 8	1.251 9	2.490 9	97.70	98.30	0.68
	0.151 3	1.263 6	1.251 9	2.490 8	98.03		
	0.152 4	1.272 8	1.251 9	2.500 8	98.09		
	0.152 0	1.269 4	1.251 9	2.501 0	98.38		
	0.152 8	1.276 1	1.251 9	2.503 3	98.03		
	0.153 4	1.281 1	1.251 9	2.527 9	99.59		
野黄芩苷	0.151 8	0.403 4	0.423 6	0.824 9	99.50	99.48	0.66
	0.151 3	0.402 1	0.423 6	0.824 7	99.76		
	0.152 4	0.405 0	0.423 6	0.829 9	100.31		
	0.152 0	0.404 0	0.423 6	0.821 8	98.63		
	0.152 8	0.406 1	0.423 6	0.824 5	98.77		
	0.153 4	0.407 7	0.423 6	0.830 8	99.88		

2.2.4 样品含量测定

取 10 批样品,依法制备供试品溶液,按 2.2.1 项下色谱条件进样测定,计算含量,结果见表 2。

表 2 10 批样品中虎杖苷和野黄芩苷含量测定结果(mg/粒, $n = 2$)

Tab. 2 Content determination of polydatin and scutellarin in 10 batches of samples (mg/capsule, $n = 2$)

批号	虎杖苷	野黄芩苷	批号	虎杖苷	野黄芩苷
180501	2.551 4	0.819 7	180902	2.398 1	0.850 8
180502	2.461 7	0.800 2	180903	2.412 4	0.858 9
180503	2.546 0	0.830 0	180904	2.478 8	0.864 7
180504	2.503 0	0.817 2	181001	2.496 1	0.765 1
180901	2.478 9	0.865 0	181002	2.404 4	0.740 1

3 讨论

3.1 TLC 条件筛选

鸡血藤:鸡血藤 TLC 为新增项,在进行方法摸索

时,首先参照2015年版《中国药典(一部)》^[1](注:作者试验时2020年版《中国药典》尚未正式执行,且2020年版《中国药典》此项无改动,下同)中“鸡血藤”鉴别项下方法,因样品为复方制剂,其余处方药材对鸡血藤的干扰较大,TLC结果欠佳,后参照2015年版《中国药典(一部)》“花红片”项下鉴别(3)、“花红胶囊”项下鉴别(3)、“止痛化癥片”项下鉴别(6)及文献[2-3]的展开系统确定了鸡血藤的TLC方法。以上资料中均仅使用对照药材作为对照,通过文献[4]确定芒柄花素为鸡血藤中特征性成分,因此加入芒柄花素对照品协同鸡血藤对照药材作为双对照。

灯盏细辛:灯盏细辛TLC为新增项,由文献[5]可知,灯盏细辛中含有野黄芩苷、咖啡酸等化学成分,通过文献[6]确定了灯盏细辛的TLC方法。在预试验中同时也增加了咖啡酸对照品,但相同的TLC条件下咖啡酸对照品斑点不明显,因此最终未选择咖啡酸作为对照。

3.2 TLC耐用性考察

分别采用前述不同来源的薄层板,分别在无饱和、预饱和30 min、预饱和60 min,低温(5~15℃)、常温(20~30℃)、高温(40~50℃),低湿度(相对湿度30%~40%)、高湿度(相对湿度65%~75%)条件下考察,均能获得良好的色谱分离效果,斑点清晰、圆整,且阴性对照无干扰。鸡血藤TLC在不饱和的情况下会发生边缘效应,故规定预饱和时间为15~30 min,进而形成文中有效的鉴别方法。

3.3 HPLC检测波长选择

通过文献[5,7]可知,虎杖和灯盏细辛中分别含有虎杖苷、野黄芩苷2种有效成分。分别取虎杖苷对照品和野黄芩苷对照品,用甲醇溶解后,以甲醇作空白对照,在紫外可见区进行全波段扫描,虎杖苷和野黄芩苷分别在318 nm和335 nm波长处有最大吸收,结合紫外响应值大小、色谱峰峰形尖锐、阴性无干扰等条件,选择335 nm作为检测波长。

3.4 HPLC方法选择

流动相:在摸索虎杖和灯盏细辛的含量测定方法时,参考2015年版《中国药典(一部)》^[1]中“虎杖”“护肝宁片”“灯盏细辛”“灯盏生脉胶囊”“灯盏花素片”含量测定项下色谱条件及文献^[8-9],分别考察了乙腈-水(15:85和23:17, V/V),乙腈-0.2%磷酸溶液(15:85和14:86, V/V),甲醇-0.2%磷酸溶液(35:65和30:70, V/V),乙腈-四氢呋喃-0.2%磷酸溶液(14:14:72, V/V/V)等不同配比作为流动相进行试验,结果表明,乙腈-0.2%磷酸溶液(14:86, V/V)为最佳流动相,能使被测成分与其他成分较好地分离,峰形好,阴性对照

无干扰。

提取溶剂和提取方法:考察了水、稀乙醇、50%甲醇、甲醇4种溶剂的提取效果,采用50%甲醇提取时得率最高,测定无干扰,测定峰与相邻杂质峰分离度均在1.5以上,故采用50%甲醇作为提取溶剂。同时考察了超声处理(250 W, 50 kHz)、60℃振摇、加热回流3种提取方法的效果,结果显示,超声提取和加热回流提取对2种有效成分的影响相似,但超声提取操作简单易行,故采用超声提取;以50%甲醇为溶剂时,考察了超声处理(250 W, 50 kHz)15, 30, 45, 60 min对2种有效成分提取效果的影响,发现超声30 min时2种有效成分基本提取完全,故被选用。

耐用性:同时对不同厂家、型号色谱柱(Agilent Eclipse XDB-C₁₈柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm), Agilent 5 HC-C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), Thermo Acclaim™ 120-C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)和Shiseido CAPCELL PAK MG II-C₁₈柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm),不同柱温(25, 30, 35, 40℃),不同流速(0.8, 1.0, 1.2 mL/min)条件进行了考察,结果上述色谱条件的色谱峰峰形、分离度、理论板数发生一定程度变化时,均能满足试验要求,耐用性较好。

3.5 方法评价

本研究中建立的TLC法专属性强、灵敏度高, HPLC法简便可行,结果准确、可靠,重复性、稳定性好,可用于彝心康胶囊的质量控制。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 194.
- [2] 曾聪彦, 陈逸塋. 舒脊片中鸡血藤的薄层色谱鉴别研究[J]. 北方药学, 2016, 13(12): 2-3.
- [3] 彭词艳, 胡艳, 王霞, 等. 冠脉宁片的制备与质量标准完善[J]. 药学服务与研究, 2014, 14(4): 268-271.
- [4] 翟明, 刘军民. 鸡血藤化学成分研究[J]. 今日药学, 2015, 25(7): 476-478.
- [5] 郭欣, 林珊, 吴丽明, 等. 灯盏细辛化学成分及药理作用研究进展[J]. 中成药, 2019, 41(2): 393-402.
- [6] 王彦青. 灯盏细辛药材的薄层色谱鉴别[J]. 中外医疗, 2014, 7(10): 134-135.
- [7] 时圣明, 潘明佳, 王文倩, 等. 虎杖的化学成分及药理作用研究进展[J]. 药物评价研究, 2016, 39(2): 317-321.
- [8] 王舒. HPLC同时测定灯盏细辛提取物中3种有效成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(19): 72-74.
- [9] 苏锦松, 吕秀梅, 张静. 不同产地灯盏细辛药材野黄芩苷含量测定[J]. 中药与临床, 2016, 7(2): 18-19.

(收稿日期: 2020-12-15; 修回日期: 2021-03-25)