

中图分类号: R917; R927 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)10-0086-04
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.10.017



麝香化痰醒脑颗粒质量标准研究*

黄江, 黄锐, 杨思进, 白雪, 杨云芳[△]

(西南医科大学附属中医医院, 四川 泸州 646000)

摘要:目的 建立麝香化痰醒脑颗粒的质量标准。方法 采用薄层色谱(TLC)法定性鉴别制剂中的麝香、黄芪、大黄;采用高效液相色谱(HPLC)法测定制剂中人参皂苷Rb₁的含量,色谱柱为Ultimate™ C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-水(梯度洗脱),流速为1.0 mL/min,检测波长为203 nm,柱温为40 °C,进样量为10 μL。结果 麝香、黄芪、大黄的TLC图斑点清晰,分离度好,且阴性对照无干扰;人参皂苷Rb₁质量浓度在78.04~780.40 μg/mL范围内与峰面积线性关系良好(R² = 0.999 1, n = 6);精密度、稳定性、重复性试验结果的RSD均小于3.0%;平均加样回收率为96.84%,RSD为3.16%(n = 9)。结论 该方法操作简便,重复性好,结果准确可靠,可用于麝香化痰醒脑颗粒的质量控制。

关键词: 麝香化痰醒脑颗粒;薄层色谱法;高效液相色谱法;麝香;黄芪;大黄;人参皂苷Rb₁

Study on Quality Standard of Shexiang Huayu Xingnao Granules

HUANG Jiang, HUANG Rui, YANG Sijin, BAI Xue, YANG Yunfang

(The Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan, China 646000)

Abstract: Objective To establish a quality standard for Shexiang Huayu Xingnao Granules. **Methods** The Moschus, Astragali Radix and Rhei Radix et Rhizoma in the preparation were identified qualitatively by the thin-layer chromatography (TLC) method. The content of ginsenoside Rb₁ in the preparation was determined by high-performance liquid chromatography (HPLC) method; the chromatographic column was the Ultimate™ C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), the mobile phase was acetonitrile-water (gradient elution), the flow rate was 1.0 mL/min, the detection wavelength was 203 nm, the column temperature was 40 °C, and the injection volume was 10 μL. **Results** The TLC chromatograms of Moschus, Astragali Radix and Rhei Radix et Rhizoma had clear spots and good resolution, and there was no interference from the negative reference. The linear range of ginsenoside Rb₁ was 78.04 - 780.40 μg/mL (R² = 0.999 1, n = 6). The RSDs of precision, stability and repeatability tests were all lower than 3.0%. The average recovery rate of ginsenoside Rb₁ was 96.84% with an RSD of 3.16% (n = 9). **Conclusion** This method is simple, repeatable, accurate and reliable, which can be used for quality control of Shexiang Huayu Xingnao Granules.

Key words: Shexiang Huayu Xingnao Granules; TLC; HPLC; Moschus; Astragali Radix; Rhei Radix et Rhizoma; ginsenoside Rb₁

麝香化痰醒脑颗粒由麝香、黄芪、桂枝、盐泽泻、三七、大黄、大血藤等药物组成。方中,麝香芳香走窜,通行十二经,开通诸窍,善入细络,具有开窍醒神功效^[1-3],为君药。黄芪大补元气,气行则血行,气能摄血;三七散瘀止血,二者共为臣药,起益气、活血、化痰功效^[4-7]。桂枝温通经脉,助阳化气;泽泻利水渗湿,化浊;大黄既推陈出新、通利解毒,又活血化痰、荡涤邪气,三

者共为佐药,起温经利水、化痰泻浊、化痰解毒作用^[8]。大血藤解毒、活血、祛风,为使药。全方共奏风药开窍、活血利水之功效^[9],治疗出血性脑卒中急性期有很好的疗效,且安全可靠^[10-14]。本研究中采用薄层色谱(TLC)法定性鉴别制剂中的麝香、黄芪、大黄,并采用高效液相色谱(HPLC)法测定制剂中人参皂苷Rb₁的含量,以建立麝香化痰醒脑颗粒的质量标准。现报道如下。

*基金项目:全国中药特色技术传承人才培养项目[国中医药人教函[2023]96号];国家中医临床研究基地建设单位科研项目[西南医大中医院(2020)33号]。

第一作者:黄江,男,硕士,副主任中药师,研究方向为中药制剂,(电子信箱)huangjiang0818@163.com。

[△]通信作者:杨云芳,女,硕士,副主任中医师,研究方向为中西医结合防治脑血管疾病,(电子信箱)yangyunfang84@163.com。

tolerance interval two one-sided test for delivered dose uniformity of orally inhaled products [J]. AAPS PharmSci-Tech, 2011, 12(4): 1144-1156.

[18] TSONG Y, DONG XY, SHEN MY, et al. Quality assurance test of delivered dose uniformity of multiple-dose inhaler and dry powder inhaler drug products [J]. J Biopharm Stat, 2015(25):

328-338.

[19] LAN Y, LIN CT, CAO HY. Evaluating two PTI test procedures for control of delivered dose uniformity for aerosol products [J]. Stat Biopharm Res, 2012, 4(2): 136-148.

(收稿日期:2023-08-12;修回日期:2024-04-19)

1 仪器与试药

1.1 仪器

LC-20AT型高效液相色谱仪(日本Shimadzu公司); JPCT0328型超声波处理器(武汉嘉鹏电子有限公司); HH-8型恒温水浴锅(江苏金怡仪器科技有限公司); HGZF-II-101-3型恒温干燥箱(上海跃进医疗器械有限公司)。

1.2 试药

麝香化瘀醒脑颗粒(我院自制,批号分别为20210327, 20210328, 20210329); 黄芪甲苷对照品(批号为110781-201717, 含量96.9%), 麝香酮对照品(批号为110719-201716, 含量99.9%), 人参皂苷Rb₁对照品(批号为110704-202028, 含量93.1%), 大黄对照药材(批号为120902-201912), 均购自中国食品药品检定研究院; 硅胶G薄层板、硅胶H薄层板(青岛海洋化工厂分厂); 乙腈、甲醇均为色谱纯, 其余试剂为分析纯, 水为娃哈哈纯净水。

2 方法与结果

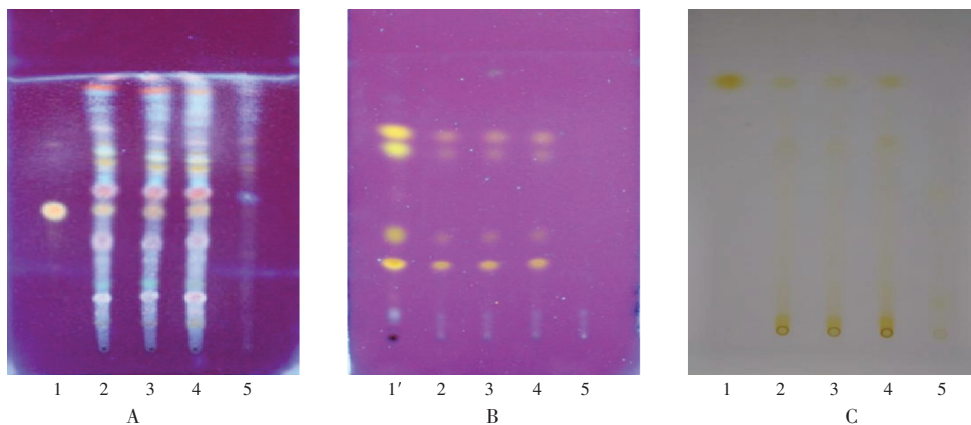
2.1 TLC鉴别

黄芪: 取样品粉末2 g, 加甲醇50 mL, 超声(功率350 W、频率35 kHz, 下同)提取30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加水20 mL溶解, 用水饱和的正丁醇萃取3次(每次20 mL), 正丁醇液用氨试液洗涤2次(每次20 mL), 再用20 mL正丁醇饱和的水溶液洗涤1次, 蒸干正丁醇液, 残渣加甲醇1 mL溶解, 即得供试品溶液^[15]。取黄芪甲苷对照品适量, 加甲醇制成质量浓度为1 mg/mL的对照品溶液。按麝香化瘀醒脑颗粒处方及工艺制备缺黄芪的阴性样品, 同供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。吸取上述溶液各5 μL, 点于同一

硅胶G薄层板上, 以三氯甲烷-甲醇-水(13:7:2, V/V/V)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以10%硫酸乙醇, 105 °C加热至显色清晰^[16], 置紫外光灯(365 nm)下检视。结果供试品溶液色谱中, 在与对照品溶液色谱相应位置显相同荧光斑点, 且阴性对照无干扰。详见图1 A。

大黄: 取样品粉末2 g, 加甲醇30 mL, 超声提取30 min, 滤过, 滤液蒸干, 加10 mL水溶解, 加盐酸1 mL, 水浴加热30 min, 冷却至室温, 乙醚提取2次(每次20 mL), 乙醚液挥干后加乙酸乙酯2 mL溶解, 即得供试品溶液^[17]。取大黄对照药材0.1 g, 同法制备对照药材溶液。按麝香化瘀醒脑颗粒处方及工艺制备缺大黄的阴性样品, 同供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。吸取上述溶液各5 μL, 点于同一硅胶H薄层板上, 以正己烷-乙酸乙酯-甲酸(30:10:0.5, V/V/V)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光灯(365 nm)下检视^[18-19]。结果供试品溶液色谱中, 在与对照药材溶液色谱相应位置显相同荧光斑点, 且阴性对照无干扰。详见图1 B。

麝香: 取样品粉末32 g, 加50%甲醇120 mL, 超声处理30 min, 滤过, 离心, 取上清液, 石油醚提取2次(每次20 mL), 收集石油醚, 挥干, 残渣用1 mL乙酸乙酯溶解, 加二硝基苯胍乙醇1 mL, 即得供试品溶液^[20-21]。取麝香酮对照品适量, 制备含2%麝香酮的乙酸乙酯溶液, 取1 mL, 加二硝基苯胍乙醇1 mL, 置试管中40 °C温浸30 min, 冷却后即得对照品溶液^[22]。按麝香化瘀醒脑颗粒处方及工艺制备缺麝香的阴性样品, 同供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。吸取上述溶液各10 μL, 点于同一硅胶G薄层板上, 以甲



A. 黄芪 B. 大黄 C. 麝香

1. 对照品溶液 1'. 对照药材溶液 2-4. 供试品溶液 5. 阴性对照品溶液

图1 薄层色谱图

A. Astragali Radix B. Rhei Radix et Rhizoma C. Moschus

1. Reference solution 1'. Reference medicinal material solution 2-4. Test solution 5. Negative reference solution

Fig.1 TLC chromatograms

苯为展开剂,展开,取出,晾干。结果供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应位置显相同黄色斑点,且阴性对照无干扰。详见图1 C。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件

色谱柱:Ultimate™ C₁₈柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A) - 水(B),梯度洗脱(0~10 min时20%A, 11~20 min时20%A → 40%A, 21~30 min时40%A → 20%A, 31~35 min时20%A);流速:1.0 mL/min;检测波长:203 nm;柱温:40 °C;进样量:10 μL。

2.2.2 溶液制备

取人参皂苷Rb₁对照品适量,精密称定,加甲醇制成质量浓度为0.2 mg/mL的对照品溶液。取样品粉末5 g,精密称定,加甲醇50 mL,称定质量,超声提取1 h,冷却至室温,用甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。按麝香化癍醒脑颗粒处方及工艺制备缺三七的阴性样品,同供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.2.3 方法学考察

系统适用性试验:取2.2.2项下3种溶液各10 μL,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果理论板数按人参皂苷Rb₁峰计大于4 000,分离度大于1.5。详见图2。

线性关系考察:精密量取2.2.2项下对照品溶液适量,加甲醇制成不同质量浓度的系列对照品溶液。精密吸取10 μL,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以人参皂苷Rb₁质量浓度($X, \mu\text{g}/\text{mL}$)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 3\,091.8X - 275.7 (R^2 = 0.9991, n = 6)$ 。结果表明,人参皂苷Rb₁质量浓度在78.04~780.40 μg/mL范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验:精密量取2.2.2项下对照品溶液10 μL,按2.2.1项下色谱条件进样测定6次,记录峰面积。结

果的RSD为0.17%($n = 6$),表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取2.2.2项下供试品溶液适量,分别于室温放置0,2,4,6,8,12,24 h时按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果的RSD为0.02%($n = 7$),表明供试品溶液在室温放置24 h内基本稳定。

重复性试验:取样品(批号为20210327)5 g,精密称定,共6份,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,记录峰面积,并计算含量。结果人参皂苷Rb₁的平均含量为1.619 9 mg/g, RSD为2.07%($n = 6$),表明方法重复性良好。

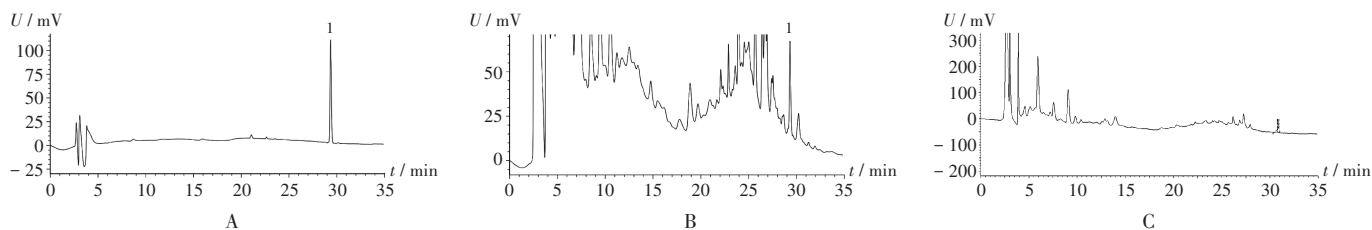
加样回收试验:取已知含量的样品(批号为20210327)约5 g,精密称定,共9份,加入一定质量浓度的对照品溶液,并按2.2.2项下方法制备供试品溶液,按2.2.1项下色谱条件进样测定,记录峰面积,并计算加样回收率。结果见表1。

表1 加样回收试验结果($n = 9$)
Tab. 1 Results of the recovery test ($n = 9$)

取样量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	\bar{X} (%)	RSD(%)
5.105 1	8.269 8	4.098 6	12.093 3	93.29		
5.044 1	8.170 9	4.098 6	11.971 5	92.73		
5.069 4	8.211 9	4.098 6	12.059 4	93.87		
5.071 4	8.215 2	8.197 2	16.427 4	100.18		
5.064 3	8.203 7	8.197 2	16.348 1	99.36	96.84	3.16
5.008 4	8.113 1	8.197 2	16.306 8	99.96		
5.014 3	8.122 7	12.295 8	19.898 7	95.77		
5.007 9	8.112 3	12.295 8	20.001 1	96.69		
5.015 6	8.124 8	12.295 8	20.384 2	99.70		

2.2.4 样品含量测定

取样品5 g,精密称定,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,记录峰面积,并计算含量,结果3批样品中人参皂苷Rb₁的平均含量为1 533.33 μg/g, RSD为3.07%。根据《四川省医疗机构制剂研究技术指南》规定指标性成分含量以80%设限,初步拟订麝香化癍醒脑颗粒中人参皂苷Rb₁含量不



1. 人参皂苷Rb₁

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图2 高效液相色谱图

1. Ginsenoside Rb₁

A. Reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 2 HPLC chromatograms

得低于0.1%。本研究中各批次样品含量均符合要求。

3 讨论

麝香化痰醒脑颗粒处方已在临床应用多年,治疗出血性脑卒中急性期有较好疗效。该方以脑玄府理论为指导,主张治疗脑出血需用风药“开窍”并辅以活血利水。本研究中根据方中各药的功效结合其主要化学成分,选取了君药麝香及臣药黄芪、大黄作为本制剂的主要定性鉴别指标,建立了专属性较强、操作简便的TLC鉴别方法。在TLC鉴别中,黄芪、大黄、麝香的提取方式均为超声提取,提取时间为30 min,最大限度地保留有效成分的同时简化了操作,提高了工作效率,符合产业化生产对中药制剂快速检验分析的需求。预试验中还考察了3种不同展开系统对色谱分离效果的影响,最后选定本研究中的展开系统,所得TLC图斑点显色清晰,分离效果良好,且阴性对照无干扰。

人参皂苷Rb₁属四环三萜类化合物,是三七的主要指标性成分,本研究中采用HPLC法测定制剂中人参皂苷Rb₁的含量。结果表明,在选定色谱条件下人参皂苷Rb₁在一定质量浓度范围内与峰面积线性关系良好,色谱峰峰形好,分离度高,各组间干扰小,说明所建立的方法可靠,可用于麝香化痰醒脑颗粒质量控制中的定量检测。但本研究中含量测定仅考察了人参皂苷Rb₁的测定方法,指标略单一,在后续生产质量控制中可增加含量测定指标。同时,针对该制剂中其他成分未作定性鉴别与定量测定,在后续研究中可进一步增加质量控制指标,不断提高产品质量控制水平。

综上所述,本研究中所建立的方法操作简便,重复性好,结果准确可靠,可用于麝香化痰醒脑颗粒的质量控制。

参考文献

[1] 黄江,黄锐,袁渊,等. 正交试验优选麝香化痰醒脑颗粒水提工艺[J]. 中国药业,2023,32(6):51-54.
[2] 陈翠兰,冯东山,陶京瑞,等. 开窍药治疗缺血性脑卒中的作用机制研究进展[J]. 中药药理与临床,2023,39(10):105-110.
[3] 王丹,王心雨,卢烽,等. 基于本草考证的麝香功能主治及用法用量挖掘[J]. 中成药,2022,44(4):1239-1243.
[4] WANG XJ, LI JC, ZHU BW, et al. Exploring the Mechanism of *Astragalus propinquus* Schischkin and *Panax Notoginseng* (A&P) Compounds in the Treatment of Renal Fibrosis and Chronic Kidney Disease Based on Integrated Network Analysis[J]. Evidence - Based Complementary and Alternative Medicine, 2022, 2022:2646022.
[5] 李艳玲,丁煌,傅馨莹,等. 黄芪甲苷配伍三七总皂苷对脑缺血大鼠 BMSCs 移植后神经修复的影响[J]. 中草药,

2021,52(21):6537-6544.

[6] 王震,卢小燕,刘璐. 不同剂量黄芪配伍的补阳还五汤治疗缺血性脑卒中的临床疗效及其对神经功能和血液流变学的影响[J]. 临床合理用药杂志,2021,14(27):1-3.
[7] 李艳玲,丁煌,杨芙蓉,等. 黄芪甲苷配伍三七总皂苷对脑缺血大鼠 BMSCs 移植后血管新生的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(21):73-79.
[8] 夏利显,李崇剑,苏保满. 活血化痰泻浊方治疗对高血压患者内皮细胞功能、炎症细胞因子及血流动力学的影响[J]. 中药药理与临床,2021,37(3):180-183.
[9] 吴国海,罗朝利,邢建华. 木川渗透液的制备及临床应用[J]. 中国药业,2008,17(24):44-45.
[10] RANGANATHAN R, DOHERTY C, GUSSET M, et al. Scientific basis and active ingredients of current therapeutic interventions for stroke rehabilitation[J]. Restorative Neurology and Neuroscience, 2022, 40(2):97-107.
[11] LUO CY, WU YM, CHEN XL, et al. Chemical Composition, Protective Effects, and Mechanisms of Volatile Oil from *Fructus Gleditsiae Abnormalis* with Nasal Administration against Ischemic Injury in HFD and MCAO - Induced Rats[J]. Evidence - Based Complementary and Alternative Medicine, 2021, 2021:8880996.
[12] 付晓兵,贾春红,陈智华,等. 缺血性中风患者发病时间周期性的临床研究[J]. 光明中医,2020,35(11):1610-1611.
[13] 王小亮. 中药药治疗出血性中风研究进展[J]. 光明中医,2020,35(10):1598-1601.
[14] 刘涛,王杨,崔寒尽,等. 基于蛋白质组学大黄异病同治急性中风大鼠脑物质的基础及相关机制[J]. 中国实验方剂学杂志,2020,26(19):160-168.
[15] 王丹或,曲涵婷,李本淳,等. HPLC-UV法测定人参归脾丸中人参皂苷Rb₁的含量[J]. 中国医药导刊,2021,23(7):518-521.
[16] 刘升,王延珍,冯文丽,等. 扶正解毒口服液质量控制方法研究[J]. 医学信息,2019,32(7):100-103.
[17] 鄢胜君,李慧. 2020年版《中国药典》中药修订内容分析[J]. 湖北成人教育学院学报,2022,28(1):96-100.
[18] 郭新强,姜军华. HPLC法同时测定六味安消片中大黄素、大黄酚及没食子酸的含量[J]. 药品评价,2021,18(11):661-663.
[19] 曾海生,陈勇,谢臻,等. 清蒸大黄的炮制及其五种游离蒽醌的含量测定分析[J]. 湖北农业科学,2019,58(7):111-114.
[20] 孙芸,汪爱霞,杨奎文,等. 前列泰片质量标准的研究[J]. 甘肃医药,2019,38(7):639-642.
[21] 王锦玉,孙晓丽,仝燕,等. 筋骨草中总环烯醚萜苷的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(8):3-5.
[22] 姚关东. 护肝宁片的薄层色谱鉴别[J]. 齐鲁药事,2004,23(8):25-26.

(收稿日期:2023-04-20;修回日期:2023-10-17)