

## 培元通脑胶囊质量标准研究

李海燕, 宋汉敏, 李振国\*

(河南省食品药品检验所, 郑州 450003)

**[摘要]** 目的: 建立培元通脑胶囊的质量标准。方法: 采用薄层色谱法对培元通脑胶囊中何首乌、肉桂、赤芍及肉苁蓉进行定性鉴别; HPLC测定何首乌中2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D葡萄糖苷的含量。色谱条件: Agilent ZORBAX SB-C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu$ m), 流动相乙腈-水(15:85), 流速1.0 mL·min<sup>-1</sup>。结果: TLC的斑点清晰、分离度较好, 阴性无干扰; 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D葡萄糖苷在0.064 5 ~ 0.805 9  $\mu$ g线性关系良好, 平均回收率为99.4%, RSD 2.2% (n=6)。结论: 所建标准可用于培元通脑胶囊的质量控制。

**[关键词]** 培元通脑胶囊; 薄层色谱; 何首乌; 肉桂; 赤芍; 肉苁蓉; 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D葡萄糖苷; HPLC

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)02-0129-04

## Studies of Quality Standard on Peiyuantongnao Capsule

LI Hai-yan, SONG Han-min, LI Zhen-guo\*

(Henan Provincial Institute of Food and Drug Control, Zhengzhou 450003, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish the methods of identification and assay in Peiyuantongnao Capsule. **Method:** TLC was used to determine *Polygonum multiflorum*, *Cinnamomum cassia*, *Paeoniae radix rubra*, *Herba Cistanches* and HPLC was used to determine the content of stilbene glycoside. **Result:** The spots of TLC were fairly clear with the good separation. The linear range of baicalin was from 0.064 5 to 0.805 9  $\mu$ g. The average recovery was 99.4%, RSD was 2.2% (n=6). **Conclusion:** The established standard is applicable for the quality control of Peiyuantongnao Capsule.

**[Key words]** Peiyuantongnao Capsule; TLC; *Polygonum multiflorum*; *Cinnamomum cassia*; *Paeoniae radix rubra*; *Herba cistanches*; stilbene glycoside; HPLC

培元通脑胶囊收载于新药转正标准第37册<sup>[1]</sup>, 主要功效为益肾填精、息风通络, 用于缺血性中风中经络恢复期肾元亏虚、瘀血阻络证。原标准较繁琐,

且不能对药品进行有效质量控制, 作者根据处方所含药味的化学成分及剂型特点, 全面提高了质量标准, 研究修订了何首乌、肉桂、赤芍的薄层色谱鉴别,

[收稿日期] 20120629(006)

[第一作者] 李海燕, 主管药师, 硕士, 从事中药分析研究, Tel: 13523578028, 0371-63388283, E-mail: kjlhy@139.com

[通讯作者] \*李振国, 主任药师, Tel: 0371-63388168, E-mail: hnyj111@yahoo.com.cn

[9] 倪文澎, 钱平, 周琴妹, 等. RP-HPLC法同时测定养生丸中芍药苷和阿魏酸的含量[J]. 中国药师, 2010, 13(8): 1114.  
[10] 何建雄, 赖小平, 魏刚, 等. HPLC测定银翘柴桂汤中绿原酸、芍药苷、黄芩苷[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(6): 48.

[11] 张孝法. HPLC法测定逍遥软胶囊中芍药苷的含量[J]. 中草药, 2004, 35(10): 1137.  
[12] 李丽华, 阎翠兰, 刘文泰. 高效液相色谱法测定脏腑和胶囊中芍药苷的含量[J]. 中国药学杂志, 2004, 39(4): 307.

[责任编辑] 顾雪竹

增加了肉苁蓉的薄层色谱鉴别及何首乌中 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D 葡萄糖苷<sup>[2-3]</sup>的含量测定方法,用以更好的控制药品质量。

### 1 仪器与试剂

美国 Agilent 1100 型高效液相色谱仪,硅胶 G 预制薄层板(青岛海洋化工厂,批号 070507),超声波清洗机(功率 250 W,频率 40 kHz),何首乌、桂皮醛、芍药苷、肉苁蓉对照药材(批号分别为 121454-200703, 110710-200714, 110736-200731, 121101-200402)及 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D 葡萄糖苷对照品(批号 110844-201109,供含量测定用,以 94.7% 计算)均由中国药品生物制品检定所提供,培元通脑胶囊由河南羚锐制药股份有限公司生产(批号 110216,110107,110130);乙腈为色谱纯,水为乐百氏纯净水,其他试剂均为分析纯。

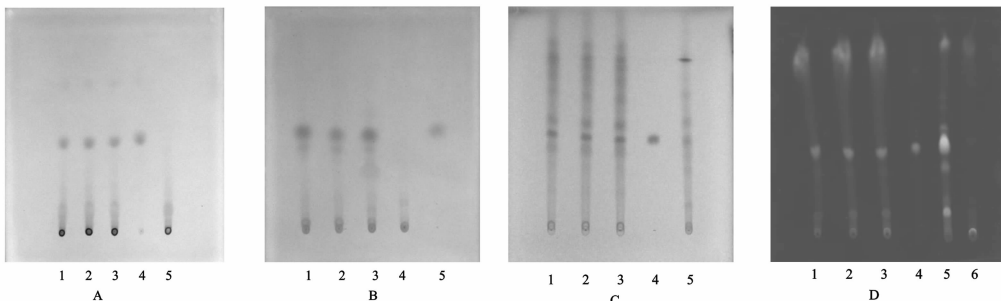
### 2 定性鉴别

**2.1 何首乌<sup>[4]</sup>的 TLC 鉴别** 取本品内容物 5 g,加乙醇 50 mL,回流提取 1 h,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加 1.0 mol·L<sup>-1</sup> 硫酸溶液 20 mL,沸水浴上水解 20 min,取出,放冷,加水 20 mL,用乙醚提取 3 次(20,20,20 mL),合并乙醚提取液,水浴蒸干,残渣加甲醇 5 mL 使溶解,作为供试品溶液。处方中除去何首乌按培元通脑胶囊制备工艺制备,同法制成阴性对照溶液。另取何首乌对照药材 3 g,同法制成对照药材溶液。照 TLC 法试验,吸取上述 3 种溶液各 8 μL,分别点于同一硅胶 H 薄层板上,以石油醚(30~60℃)-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1)的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,置氨蒸气中熏约 1 min。供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性无干扰,见图 1A。

**2.2 肉桂的 TLC 鉴别** 取本品内容物 5 g,加乙醚

20 mL,超声提取 20 min,滤过,滤液室温挥至约 1 mL,作为供试品溶液。处方中除去肉桂按培元通脑胶囊制备工艺制备,同法制成阴性对照溶液。另取桂皮醛对照品,加乙醇制成每 1 mL 含 1 μL 的溶液,作为对照品溶液。照 TLC 法试验,吸取上述供试品溶液 10 μL、对照品溶液 2 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以石油醚(60~90℃)-乙酸乙酯(8.5:1.5)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以二硝基苯肼乙醇试液。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性无干扰,见图 1B。

**2.3 赤芍<sup>[5]</sup>的 TLC 鉴别** 取本品内容物 10 g,加无水乙醇 100 mL,加热回流 1 h,取出,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加水 30 mL 使溶解,加入氯化钠使成饱和溶液,充分搅拌,滤过,滤液用水饱和正丁醇振荡提取 2 次,每次 20 mL,合并正丁醇液,置水浴上浓缩至约 1 mL,加适量氧化铝在水浴上拌匀,干燥,加在中性氧化铝柱(100~200 目,3 g,内径 1 cm)上,用乙酸乙酯-甲醇(3:1)混合溶液 30 mL 洗脱,弃去洗脱液,再用乙酸乙酯-甲醇(1:1)混合溶液 50 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。处方中除去赤芍按培元通脑胶囊制备工艺制备,同法制成阴性对照溶液。另取芍药苷对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 2 mg 的对照品溶液。照 TLC 法试验,吸取上述 3 种溶液各 10 μL,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(40:5:10:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 香草醛硫酸溶液,在 105℃ 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,显相同颜色的斑点,阴性无干扰,见图 1C。



A. 何首乌(1~3. 供试品;4. 何首乌对照药材;5. 缺何首乌阴性对照);  
B. 肉桂(1~3. 供试品;4. 缺何首乌阴性对照;5. 桂皮醛);  
C. 赤芍(1~3. 供试品;4. 芍药苷;5. 缺赤芍阴性对照);  
D. 肉苁蓉(1~3. 供试品;4. 松果菊苷;5. 肉苁蓉对照药材;6. 缺肉苁蓉阴性)

图 1 薄层色谱图

**2.4 肉苁蓉<sup>[6]</sup>的TLC鉴别** 取本品内容物3 g,加甲醇30 mL,超声提取15 min,滤过,滤液蒸干,加甲醇5 mL使溶解,作为供试品溶液。处方中除去肉苁蓉按培元通脑胶囊制备工艺制备,同法制成阴性对照溶液。另取肉苁蓉对照药材0.5 g,同法制成对照药材溶液;取松果菊苷对照品,加甲醇制成每1 mL含0.5 mg的对照品溶液。照TLC法试验,吸取上述四种溶液各1  $\mu$ L,分别点于同一聚酰胺薄层板上,以甲醇-乙酸-水(2:1:7)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照药材及对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,阴性无干扰,见图1D。

### 3 含量测定

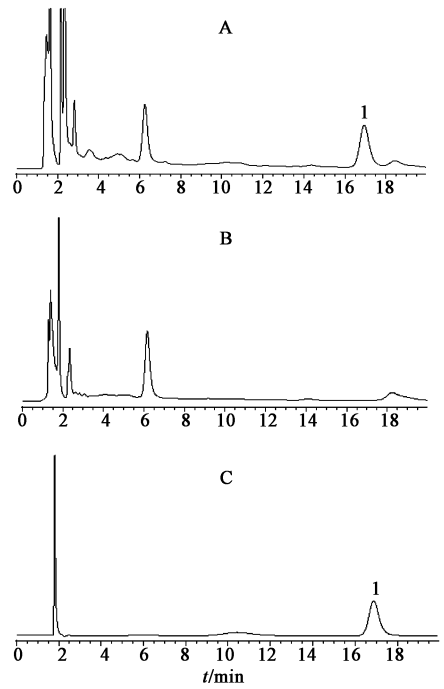
**3.1 色谱条件与系统适用性试验** Agilent ZORBAX SB-C<sub>18</sub>色谱柱(4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu$ m),柱温35  $^{\circ}$ C,检测波长320 nm,流动相乙腈-水(15:85)<sup>[7]</sup>,流速1 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>,进样体积10  $\mu$ L。理论塔板数按2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D葡萄糖苷峰计算应不低于6 000。

**3.2 对照品溶液制备** 取2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D葡萄糖苷对照品适量,精密称定,加稀乙醇溶液制成每1 mL含25  $\mu$ g的溶液,即得。

**3.3 供试品溶液制备** 取本品装量差异项下内容物,研细,取约0.6 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入稀乙醇25 mL,密塞,称定质量,加热回流30 min,放冷,再称定质量,用稀乙醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

**3.4 阴性对照试验** 处方中除去何首乌,将余药按培元通脑胶囊制备工艺制备,按供试品溶液制备方法制得阴性对照溶液。吸取上述溶液各10  $\mu$ L,分别按上述色谱条件进样分析,记录色谱图,结果显示,阴性对照图谱与对照品、供试品图谱中2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D葡萄糖苷相应的保留时间无色谱峰,表明选择性良好,阴性无干扰,见图2。

**3.5 标准曲线的制定** 精密称取2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D葡萄糖苷对照品适量,加稀乙醇制成每1 mL含32.236  $\mu$ g的溶液,精密吸取对照品溶液各2,5,7,10,15,25  $\mu$ L,按上述色谱条件测定。以进样量( $X$ ,  $\mu$ g)为横坐标,峰面积积分值( $Y$ )为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程 $Y = 4\ 289.893\ 2X - 22.032\ 6$  ( $r = 0.999\ 9$ )。结果表明,2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D葡萄糖苷在0.064 472 ~ 0.805 9  $\mu$ g线性良好。



A. 培元通脑胶囊样品; B. 阴性对照;  
C. 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D葡萄糖苷对照品

图2 培元通脑胶囊高效液相色谱

**3.6 精密度试验** 精密吸取同一供试品溶液,进样10  $\mu$ L,重复进样6次,其RSD 0.72%。

**3.7 重复性试验** 对同一批样品(批号110216)分别制备6份供试品溶液进行测定,结果2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D葡萄糖苷平均含量为1.032 mg  $\cdot$  g<sup>-1</sup>, RSD 1.4%,表明重复性良好。

**3.8 稳定性试验** 取同一供试品溶液(批号110216),按上述色谱条件分别于0,2,4,6,8,10 h测定2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D葡萄糖苷峰面积积分值。结果RSD 1.9%,表明供试品溶液在10 h内基本稳定。

**3.9 加样回收率试验** 取已知含量的同一批样品(批号110216)约0.3 g,每份加入对照品贮备液适量,按供试品溶液的制备方法制备加样供试品溶液。进样测定,计算加样回收率。结果见表1。

表1 回收率试验

No.	样重 /g	样品 中量 /mg	加入量 /mg	检出量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
1	0.300 4	0.310 0	0.400 0	0.693 8	96.0		
2	0.301 8	0.311 5	0.400 0	0.716 4	101.2		
3	0.301 7	0.311 4	0.400 0	0.706 7	98.8		
4	0.301 8	0.311 5	0.400 0	0.708 5	99.2	99.4	2.2
5	0.308 4	0.318 3	0.400 0	0.714 9	99.2		
6	0.305 2	0.315 0	0.400 0	0.724 0	102.2		

**3.10 样品含量测定** 分别取 3 个批次的样品(批号 110216, 110107, 110130), 按 3.3 项下方法制得供试品溶液, 进样测定, 按外标法计算含量。结果 3 批样品中 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D 葡萄糖苷质量分数分别为 1.032, 1.115, 1.009  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

#### 4 讨论

原标准中薄层色谱操作均较复杂且效果不理想, 经改进后, 简化了提取过程, 提高了薄层效果。如原标准中何首乌的提取需索氏提取 8 h 后用乙醚提取 6 次, 操作复杂, 经改进, 现只需回流 1 h 后用乙醚提取 3 次即可达到较好的薄层效果; 原标准中肉桂薄层色谱提取需浸泡过夜, 提取时间较长, 现改为超声提取 20 min, 提高了提取效率; 原标准中赤芍的薄层色谱效果不理想, 主斑点不清晰, 背景较深, 经改进后色谱效果明显提高, 主斑点明显清晰。

原标准对何首乌中大黄素进行了含量测定, 但大黄素不为培元通脑胶囊中何首乌起治疗作用的指标性成分, 且方法为繁琐的薄层扫描法。现代研究表明, 何首乌主要含有蒽醌、二苯乙烯苷、磷脂等成分, 具有降血脂、延缓动脉粥样硬化、抗衰老、提高免疫力、益智等作用<sup>[8,9]</sup>。二苯乙烯苷是一类具有多种生理活性的天然成分, 其中 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D 葡萄糖苷含量高, 活性明确, 已成为何首乌的标志成分, 是药典对何首乌进行质量控制的指标性成分。曾有文献<sup>[10]</sup>对培元通脑胶囊中 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D 葡萄糖苷的含量进行了研究, 但经作者进行了方法学验证, 发现该文献中超声提取法不能对 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D 葡萄糖苷提取完全, 回收率不符合要求, 经过对提取方法的考察, 改为用回流法提取, 结果回收率符合规定。曾选用甲醇、稀乙醇、70% 乙醇为提取

溶剂, 但甲醇、70% 乙醇提取不完全, 因此建立了以稀乙醇回流提取用高效液相色谱法测定本品中 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D 葡萄糖苷含量的方法, 以控制本品质量。此方法操作简便, 重复性好, 分析快速准确。

#### [参考文献]

- [1] 中华人民共和国卫生部. 卫生部药品标准新药转正标准. 第 37 册[S]. 2004: 29.
- [2] 赵荣华, 赵声兰, 文丹. 何首乌不同部位二苯乙烯苷含量测定[J]. 云南中医学院学报, 2008, 31(1): 7.
- [3] 郭炎荣, 符翠莉. 固相萃取-HPLC 同时测定润燥止痒胶囊中苦参碱和二苯乙烯苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(12): 75.
- [4] 周滢, 罗承娟, 邓中甲. 何首乌炮制历史沿革研究[J]. 中国医药导报, 2010, 7(10): 9.
- [5] 王德杭, 黄有带, 景运条, 等. 正交试验法优选金芍胶囊的水提工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(14): 23.
- [6] 宋鹏, 屠鹏飞. 中药肉苁蓉质量控制及评价的研究进展[J]. 北方药学, 2011, 8(2): 61.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 164.
- [8] 粟力杰. HPLC 法测定何首乌中二苯乙烯苷的含量[J]. 中国当代医药, 2010, 17(18): 41.
- [9] 陈庆堂, 卓丽红, 徐文, 等. 何首乌炮制过程中 5 种化学成分的含量变化[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(5): 66.
- [10] 石国明, 李志红, 姜家书. 高效液相色谱法测定培元通脑胶囊中二苯乙烯苷含量[J]. 中国药业, 2010, 19(14): 44.

[责任编辑 顾雪竹]