

续断通络胶囊质量标准研究

袁玲艳, 赵永慧*, 赵嘉琳, 翟楠, 袁宗换
(北京长城制药厂, 北京 100071)

[摘要] 目的: 建立续断通络胶囊质量标准。方法: 采用薄层色谱法对方中的狗脊、续断、白芍、槲寄生进行了定性鉴别; 采用 HPLC, 以川续断皂苷 VI 为评价指标, 色谱柱 Agilent C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-水 (30:70), 检测波长 212 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹ 进行含量测定。结果: 供试品色谱中, 在与对照品或对照药材色谱相应位置上显相同颜色的斑点, 阴性无干扰。川续断皂苷 VI 在 0.45 ~ 3.6 μg 线性关系良好 ($r=0.9999$), 平均加样回收率为 98.31%, RSD 1.42%。结论: 方法简便、专属性强、重复性好, 可有效的控制续断通络胶囊的质量。

[关键词] 续断通络胶囊; 薄层色谱; 高效液相色谱; 川续断皂苷 VI; 原儿茶醛; 芍药苷

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)02-0096-03

Studies on Quality Control of Xuanduan Tongluo Capsule

YUAN Ling-yan, ZHAO Yong-hui*, ZHAO Jia-lin, ZHAI Nan, YUAN Zong-huan
(Beijing Greatwall Pharmaceutical Factory, Beijing 100071, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for quality control of Xuanduan Tongluo capsule. **Method:** To establish qualitative analysis in teasel, rhizoma cibotii, radix paeoniae rubra and parasitic loranthus. To determine the content of teasel saponin VI by HPLC, chromatographic column was Agilent-C₁₈ with acetonitrile-water (30:70) as the mobile phase. The detection wavelength was set at 212 nm and flow rate was 1.0 mL·min⁻¹. **Result:** Provide to try article color spectrum amid, correspond the spot in same color of location with the collate article or the collate medicine material color spectrum, feminine gender have no jam. Teasel saponin VI was separated with a good linearity in the sample size ranges of 0.45-3.6 μg, the average recoveries was 98.31%, with RSD 1.42%. **Conclusion:** The method is simple, specific and reproducible to control the quality of Xuanduan Tongluo Capsule.

[Key words] Xuanduan Tongluo capsule; TLC; HPLC; teasel saponin VI; protocathechuic aldehyde; paeoniflorin

续断通络胶囊是治疗糖尿病周围神经病变的中药六类新药。该处方有十余年的临床用药基础, 由续断、狗脊、白芍等药材组成, 具有补益肝肾、化痰通络等功效。适用于肝肾亏虚、络脉痹阻证, 症见腰膝酸软、倦怠乏力、足趾发冷、疼痛、触之尤甚、感觉异常或减退, 舌质淡暗红或紫暗, 脉细涩或细数等; 糖尿病周围神经病变见上述证候者。为了更好的控制

该产品的质量, 本实验采用 TLC 法对其中的狗脊、续断、白芍、槲寄生进行了鉴别, 对续断中有效成分川续断皂苷 VI 进行了含量测定, 获得了满意的结果。

1 仪器与试剂

岛津 LC-20ATvp 高效液相色谱仪, SPD-20A 紫外检测器, Lcsolution 工作站, 超声清洗仪 (250 W, 40 kHz)。

川续断皂苷 VI 对照品 (批号 110810-200506)、原儿茶醛对照品 (批号 111685-200401)、芍药苷对照品 (批号 110736-200526)、槲皮素对照品 (批号 10081-9905)、槲寄生对照药材 (批号 121075-200402), 均购自中国药品生物制品检定所供; 硅胶 G 薄层板 (青岛海洋化工厂); 乙腈 (Fisher) 为色谱纯、水为高纯水, 其他试剂和试剂为分析纯。

[收稿日期] 20110607(007)
[基金项目] 2008 年北京市科委创新药物研究项目 (D0708021330707)
[第一作者] 袁玲艳, 研究生, 从事新药研发工作, Tel: 010-51218512, E-mail: bjcczye@sina.com
[通讯作者] * 赵永慧, 工程师, 从事新药研发工作, Tel: 010-51218512, E-mail: zhyh760416@163.com

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

2.1.1 续断的薄层鉴别 取本品内容物 2.5 g,加乙醇 40 mL,超声处理 20 min,滤过,滤液浓缩至约 5 mL,加水 10 mL,加正丁醇 20 mL 提取,正丁醇液加氨试液 10 mL 洗涤,弃去氨液,正丁醇液蒸干,残渣加乙醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取对照品川续断皂苷 VI,加乙醇制成每 1 g·mL⁻¹的对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B)试验,吸取上述 2 种溶液各 6 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上。以三氯甲烷-甲醇-水(13:7:2),4 ℃ 冷藏 24 h 的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 的硫酸乙醇溶液,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,阴性对照色谱无干扰。

2.1.2 狗脊的薄层鉴别 取本品内容物 2.5 g,加乙醇 40 mL,超声处理 20 min,滤过,滤液浓缩至约 5 mL,加水 10 mL,用乙醚 20 mL 提取,提取液蒸干,残渣加乙醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取原儿茶醛对照品,加乙醇制成每 1 g·L⁻¹的对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B)试验,吸取对照品溶液 2 μL、供试品溶液 6 μL 分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲苯-甲酸(5:6:3:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 的三氯化铁乙醇溶液,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,阴性对照色谱无干扰。

2.1.3 白芍的薄层鉴别 取本品内容物 2.5 g,加乙醇 50 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液浓缩至约 10 mL,加水 10 mL,用正丁醇振摇提取 2 次,每次 15 mL,合并正丁醇提取液,蒸干,残渣加适量乙醇使溶解,置中性氧化铝柱(200 目,2 g,内径 1.5 cm)上,用乙酸乙酯-甲醇(3:1) 30 mL 洗脱,弃去洗脱液,用乙酸乙酯-甲醇(1:1) 30 mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加乙醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取芍药苷对照品,加乙醇制成 2 g·L⁻¹的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B)试验,分别吸取对照品溶液 4 μL、供试品溶液 6 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,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,阴性对照色谱无干扰。

2.1.4 槲寄生的薄层鉴别 取本品内容物 3.0 g,加甲醇-水(1:1)60 mL,加热回流 1 h,趁热过滤,滤液浓缩至约 20 mL 后,加水 10 mL,再加稀硫酸约 0.5 mL,煮沸回流 1 h 后,用乙酸乙酯振摇提取 2 次,每次 30 mL,合并乙酸乙酯液,浓缩至约 1 mL,作为供试品溶液。另取槲寄生对照药材粉末 2.5 g,照“供试品溶液制备方法”制备,作为对照药材溶液。照薄层色谱法(《中国药典》2010 年版一部附录 VI B)试验,吸取上述 2 种溶液各 6 μL,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以甲苯(水饱和)-甲酸乙酯-甲酸(5:4:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5% 三氯化铁乙醇溶液,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,阴性对照色谱无干扰。

2.2 含量测定

2.2.1 检测波长的选择 参考《中国药典》^[1]对川续断皂苷 VI 对照品溶液在 190~400 nm 进行扫描,其在 212 nm 波长处有最大吸收且灵敏度最高,故选择波长为 212 nm。

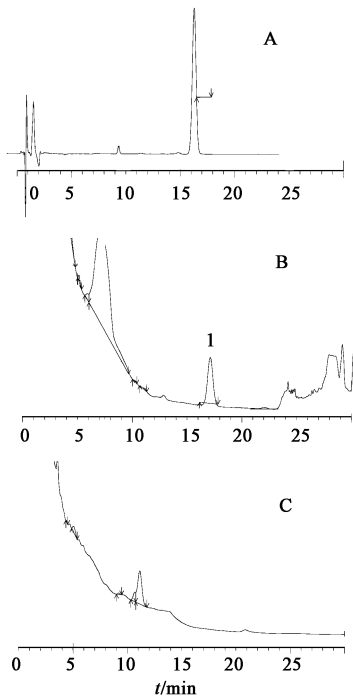
2.2.2 色谱条件与系统适应性试验 Kromasil C₁₈(4.6 mm×150 mm,5 μm)色谱柱,以乙睛-水(30:70)为流动相,检测波长为 212 nm,柱温 40 ℃,流速为 1.0 mL·min⁻¹。理论塔板数按川续断皂苷 VI 峰计算应不低于 4 000。

2.2.3 对照品溶液的制备 精密称定川续断皂苷 VI 对照品适量,加甲醇配制成 0.45 g·L⁻¹川续断皂苷 VI 的液,即得。

2.2.4 供试品溶液的制备 取本品内容物,约 1.0 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 50 mL,称定质量,超声(功率 250 W,频率 40 kHz)处理 30 min,放冷,再称定质量,用甲醇补足减失质量,摇匀,滤过,即得。

2.2.5 空白溶液的制备 按处方比例及其制备工艺制得缺续断药材的空白制剂,再按供试品溶液制备方法制备并测定,结果空白溶液在与川续断皂苷 VI 对照品相同保留时间处未见明显色谱峰,表明方中其他药味对川续断皂苷 VI 的测定无干扰(图 1)。

2.2.6 线性关系的考察 精密称取 2.2.3 对照品溶液 1,2,3,4,5,6,7,8 mL,置 10 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度。分别精密吸取上述溶液各 10 μL,测定峰面积,以峰面积值为横坐标,川续断皂苷 VI 含量为纵坐标,绘制标准曲线,计算得回归方程 $Y =$



A. 对照品; B. 供试品; C. 空白; 1. 川续断皂苷 VI

图 1 续断通络胶囊 HPLC

$4.67 \times 10^{-6} X + 0.003$ ($r = 0.9999$), 表明川续断皂苷 VI 在 $0.45 \sim 3.6 \mu\text{g}$ 具有良好的线性关系。

2.2.7 精密度试验 取同一批样品(批号 060701)按 2.2.4 方法制备,精密吸取同一供试品溶液,按照正文测定方法进行测定,重复进样 6 次, RSD $0.37\% < 2\%$, 表明精密度良好。

2.2.8 稳定性试验 按上述样品制备方法,取同一供试品溶液,分别于 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48 h 检测, RSD $0.92\% < 2\%$, 表明供试品在 48 h 内稳定,稳定性良好。

2.2.9 重复性试验 精密称取样品(批号 060701) 6 份,按 2.2.4 项方法制备供试品溶液。按上述色谱条件进行测定,计算含量, RSD $1.25\% < 2\%$, 结果表明本方法重复性良好。

2.2.10 加样回收试验 精密称取川续断皂苷 VI 对照品约 64.02 mg, 置 50 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,作为对照品溶液;精密称取已知含量的同一批号(060701)样品($14 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) 0.5 g, 置 50 mL 量瓶中,分别精密吸取上述对照品溶液 4.0, 5.0, 6.0 mL, 每个量各 3 份,共 9 份,按上述色谱条件测定,计算加样回收率,结果见表 1,表明川续断皂苷 VI 的平均加样回收率为 98.31%, RSD 1.42%, 表明收良好,该方法稳定可行。

2.2.11 样品含量测定 按正文规定含量测定方法,对 3 批样品进行测定,以外标法计算样品中含

表 1 续断通络胶囊中续断皂苷 VI 加样回收率测定 ($n = 3$)

No.	取样量 /g	样品中含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	0.498 7	6.981 8	5.121 6	11.903 9	96.10	98.31	1.42
2	0.500 2	7.002 8	5.121 6	11.966 2	96.91		
3	0.500 3	7.004 2	5.121 6	11.951 1	96.59		
4	0.504 8	7.067 2	6.402	13.397 3	98.88		
5	0.505 6	7.078 4	6.402	13.433 1	99.26		
6	0.501 2	7.016 8	6.402	13.401 3	99.73		
7	0.504 1	7.057 4	7.682 4	14.693 7	99.40		
8	0.502 5	7.035	7.682 4	14.673 8	99.43		
9	0.503 2	7.044 8	7.682 4	14.612 8	98.51		

量,分别为 $7.78, 8.31, 8.59 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

3 讨论

以原儿茶酸、原儿茶醛为对照品进行鉴别试验过程中发现,供试品色谱中在与原儿茶酸对照品相应位置上显相同颜色的斑点,但阴性存在明显干扰;而在与^[1]原儿茶醛对照品相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰,故选择原儿茶醛为对照品。参考文献^[2]白芍药材鉴别项下的方法,结果背景颜色较深,斑点拖尾较严重,样品黏性较大,故我们对供试品制备方法进行了改进。将正丁醇提取液中中型氧化铝柱,以乙酸乙酯-甲醇(1:1)为洗脱剂,同时对展开剂做了稍微调整,结果发现斑点分离度好,背景清晰,阴性无干扰。在槲寄生鉴别试验过程中,曾参考《中国药典》2010 年版槲寄生药材项下的方法,结果发现,在供试品色谱中,与槲皮素对照品相应位置上,阴性存在明显干扰;而在与槲寄生对照药材相应位置上,以 5% 三氯化铁乙醇溶液为显色剂斑点清晰,显相同颜色的斑点,阴性无干扰。

曾对不同溶剂和提取时间进行了考察。分别以乙醇、70% 乙醇、甲醇为溶剂,结果以甲醇为溶剂含量最高,且超声提取方法省时,方法简便,效果良好,同时对超声时间 30, 40 min 进行考察,结果超声 30 min 含量稍高。参考《中国药典》续断含量测定项下的乙腈-水(30:70)为流动相,川续断皂苷 VI 峰峰形对称,分离效果好,保留时间适中,根据以上试验可见本方法能够良好的控制该产品的质量。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S]. 2010:210.
- [2] 芦启琴,韩晓萍,王慧春,等.慢肝解郁胶囊质量标准的研究[J].中成药,2008,30(5):697.

[责任编辑 蔡仲德]