

通脉灵胶囊的质量控制方法研究

唐兴法, 刘希建, 张义明

(滕州市中医医院, 山东 滕州 277500)

摘要: 目的: 研究通脉灵胶囊的质量控制方法。方法: 采用 TLC 定性鉴别; 采用 HPLC 测定制剂中的酪氨酸含量。结果: 通脉灵胶囊与穿山甲对照药材在薄层的相同位置处显示出相同斑点; 酪氨酸的线性范围是 0.16~0.96 μ g, $r=0.9999$; 平均回收率为 95.51%, RSD 为 1.38%; 通脉灵胶囊中酪氨酸的含量是 11.36%。结论: 该方法灵敏、简便、重复性好, 可作为该制剂的质量控制方法。

关键词: 通脉灵胶囊; 酪氨酸; TLG; HPLC; 质量控制

中图分类号: R284.1 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2005)05-0016-02

通脉灵胶囊为穿山甲药材原粉与穿山甲提取物制成的制剂。具有活血化瘀, 熄风通络的功效。临床用于缺血性中风, 出血性中风恢复期及后遗症期。为建立其质量控制方法, 本文对其定性定量方法进行了研究, 现将结果报道如下。

1 仪器与试剂

KQ-100 超声波清洗器, 昆山市超声设备有限公司; HPLC 色谱仪, HP1050-DAD 系统; YWG-C₁₈ 分析柱 (250 \times 4.6mm, 10 μ m), 北京分析仪器厂; 硅胶 G 薄层板, 青岛海洋化工分厂; 穿山甲对照药材, 中国药品

生物制品检定所(批号 1027-200002);酪氨酸(纯度大于 98.5%),北京化学试剂公司(批号 020717);通脉灵胶囊,滕州市中医医院制剂室;甲醇为色谱纯,水为重蒸馏水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别 取通脉灵胶囊内容物 5g,研细,加氯仿 60mL 回流 4h,冷却,滤过。滤液蒸干,残渣加氯仿 1mL 溶解,作为供试品溶液。另取对照药材 1g,同法制成对照药材溶液,分别吸取上述两种溶液各 10 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以苯-丙酮(20:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以醋酐-浓硫酸(9:1)混合液,在 80℃加热数分钟,分别置日光及紫外灯(365nm)下检视,供试品色谱中在与对照药材色谱相应的位置上,显相同的斑点和荧光斑点。

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件 YWG-C₁₈ 分析柱(250×4.6mm, 10 μ m),流动相:甲醇-水(24:1),加磷酸调至 pH3.0;检测波长:220nm,流速:1.0mL/min,柱温,室温。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取酪氨酸 4.0mg 于 50mL 容量瓶中,加水超声使溶解,放冷,加水定容至刻度,摇匀,即得对照品溶液。

2.2.3 供试品的制备 取通脉灵胶囊内容物 2g,精密称定,加入 8 mol/L 的 HCl 溶液 40mL,沸水浴水解 3h,水解液过滤,残渣用水洗涤两次,每次 5mL,洗涤液与水解液合并至蒸发皿中蒸干,残渣加水溶解,定量转移至 50mL 容量瓶中,加水定容至刻度,摇匀。精密吸取该溶液 1mL 于 25mL 容量瓶中,加水定容至刻度,摇匀。精密吸取溶液 5mL 于 25mL 容量瓶中,加水定容至刻度,摇匀,即得供试品溶液。

2.2.4 标准曲线的制备 精密吸取对照品溶液。0.2 4.6 8.12 μ L,注入液相色谱仪,进行测定,以峰面积积分为纵坐标,对照品的进样量(μ g)为横坐标,求得回归方程: $Y = 2373.66X + 5.02$, $r = 0.9999$ 。结果表明,酪氨酸在 0.16 μ g~0.96 μ g 范围内呈现良好的线性关系。

2.2.5 精密度考察 精密吸取对照品溶液 6 μ L,连续进样 5 次,在上述色谱条件下测定酪氨酸对照品的峰面积, RSD 为 1.56%;吸取供试品溶液 15 μ L,连续进样 5 次,测定酪氨酸的峰面积, RSD 为 1.70%。

2.2.6 稳定性试验 精密吸取供试品溶液 15 μ L,分别在 0.2 4.6 8h 进样,测定供试品溶液中酪氨酸峰面积积分值, RSD 为 1.38%,说明供试品在 8h 内稳

定。

2.2.7 重复性实验 精密称取 5 份通脉灵胶囊内容物,按供试品溶液的制备方法制备 5 份供试品溶液,测得酪氨酸峰面积积分值, RSD 为 2.30%。

2.2.8 加样回收率试验 取已知含量的通脉灵胶囊内容物 1.0g,共 5 份,精密称定。精密加入对照品酪氨酸 100mg,按供试品溶液的制备项下制备试液;进样 15 μ L,依法测定酪氨酸含量,计算回收率,结果平均回收率为 95.51%, RSD 为 1.38%。结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果

序号	原有量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	117.38	100.97	213.58	95.57		
2	108.29	100.45	202.56	94.29		
3	114.55	100.92	212.47	97.38	95.51	1.38
4	120.01	99.18	212.27	94.23		
5	109.28	101.44	206.45	96.09		

2.2.9 样品溶液的测定 在上述色谱条件下,供试品溶液进样 15 μ L,采用外标法计算样品中酪氨酸的含量为 11.36% ($n = 3$)。

3 讨论

本文采用 2000 版药典中穿山甲药材鉴定方法进行定性鉴别。

本文同时考察了 4mol/L HCl 水解 3h(A)、6mol/L HCl 水解 3h(B)、8mol/L HCl(C) 水解 3h、8mol/L HCl 水解 4h(D)、8mol/L HCl 水解 5h(E)、10mol/L HCl 水解 3h(F) 的水解条件。结果显示, C 与 D E F 条件水解后酪氨酸的含量无显著性差异, A 与 B 水解液中酪氨酸含量较 C D E F 水解液中低,所以采用 8mol/L HCl(C) 水解 3h 作为水解条件。

酪氨酸在 220nm、230nm、280nm 处均有较强吸收,但在 220nm 处,酪氨酸基线平稳,分离度好,所以最终选择在 220nm 处测定。

穿山甲中由酪氨酸组成的环二肽成分具有一定生物活性^[1],穿山甲药材经水解后,酪氨酸的含量远高于其它氨基酸^[2],测定水解后的酪氨酸含量有一定意义,所以本文选用酪氨酸作为指标性成分。

参考文献:

- [1] 马雪梅,王强,秦永祺.炮制前后穿山甲中环二肽成分的 HPLC 定量分析.中草药,1990,21(9):19-20.
- [2] 程金友,石俊英,吕鹏月.穿山甲及其混淆品鉴别与质量研究[J].时珍国医国药,1999,10(10):758-759.