

复方垂盆草胶囊的质量标准研究

顾翔¹ 曹建华¹ 邵霞² 曹雨诞² 包贝华²

(1.南通市中医院,江苏南通 226001; 2.南京中医药大学药学院,江苏南京 210023)

摘要 目的:建立复方垂盆草胶囊的定性鉴别和含量测定方法。方法:采用薄层色谱法对复方垂盆草胶囊中垂盆草进行定性分析。采用高效液相色谱法,建立复方垂盆草胶囊中槲皮素、山柰素、异鼠李素的含量测定方法。结果:建立的薄层色谱鉴别方法可检出垂盆草。槲皮素、山柰素、异鼠李素线性范围分别为 57.0~684.0ng, 50.5~606.0ng, 54.5~654.0ng, 平均回收率分别为 97.63%($RSD=1.57\%$)、96.37%($RSD=1.21\%$)、95.85%($RSD=1.01\%$)。结论:该方法简单快捷,定量准确度高,可用于复方垂盆草胶囊的质量控制。

关键词 复方垂盆草胶囊 槲皮素 山柰素 异鼠李素 高效液相色谱法 质量控制

中图分类号 R282.71 **文献标志码** A **文章编号** 1672-397X(2016)02-0065-03

复方垂盆草胶囊的处方来源于《中华人民共和国卫生部药品标准》,标准编号:WS3-B-1391-93。该方主要由垂盆草、矮地茶等组成,具有清热解毒、活血利湿的功效,可降低谷丙转氨酶,临床用于急性肝炎及迁延性肝炎、慢性肝炎活动期^[1-2]。为了有效控制本品质量,本研究在复方冲剂原标准基础上,建立了制剂中垂盆草的 TLC 鉴别方法,并采用 HPLC 法同时测定槲皮素、山柰素、异鼠李素的含量。

1 材料

1.1 仪器 Waters 515-2996 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),Empower 色谱工作站(美国 Waters 公司)。AY220 型电子天平(日本 SHIMADZU 公司),BP211D 型电子天平(德国 Sartorius 公司)。

1.2 药品与试剂 槲皮素对照品、山柰素对照品和异鼠李素对照品均购自中国药品生物制品检定所,均为含量测定用,批号分别为 100081-200406、110861-200808、110860-200406;甲醇为色谱纯(江苏汉邦科技有限公司,批号 100056;水为重蒸水;其余试剂均为分析纯。复方垂盆草胶囊,南通市中医院药剂科自制,批号:110307,110309,110311。

2 方法与结果

2.1 垂盆草的 TLC 鉴别 取本品粉末 3g,加甲醇 20mL,超声 30min,滤过,滤液浓缩至 10mL,作为供试品溶液。另取垂盆草对照药材粉末 3g,同法制成对照药材溶液。参照薄层色谱法(中国药典 2010 年版一部附录 VIB)试验,吸取上述溶液各 20 μ L,点于同一硅胶 G 薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯(40:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5%磷钼酸乙醇溶液,在 105℃加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,

在与对照药材色谱相应的位置上,显相同的蓝绿色斑点。结果见图 1。

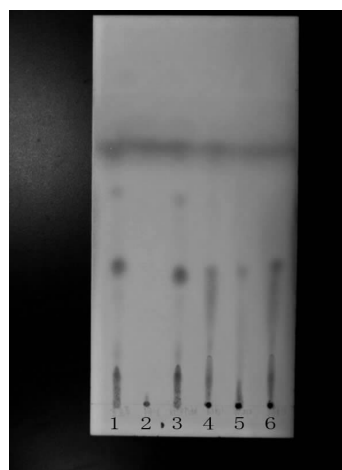


图 1 垂盆草鉴别 TLC 图

(1-垂盆草药材;2-阴性对照品;3-对照药材;4-6-复方垂盆草胶囊)

2.2 HPLC 含量测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱:汉邦 Kromasil C₁₈ 柱(4.6×200mm, 5 μ m),流动相为甲醇-0.4%磷酸溶液(45:55);检测波长为 360nm,理论板数按槲皮素峰计算应不低于 3000。在此色谱条件下,槲皮素、山柰素和异鼠李素与其他色谱峰分离良好,见图 2。

2.2.2 对照品贮备液的制备 精密称取槲皮素对照品、山柰素对照品、异鼠李素对照品适量,分别置 10mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得槲皮素对照品贮备液(1.140mg/mL)、山柰素对照品贮备液(1.010mg/mL)、异鼠李素对照品贮备液(1.090mg/mL)。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品 1g,精密称定,精密加入甲醇-25%盐酸溶液(4:1)混合溶液 25mL,

称定重量,加热回流 1h,放冷,再称定重量,用甲醇-25%盐酸溶液(4:1)混合溶液补足减失的重量,摇匀,滤过,即得。

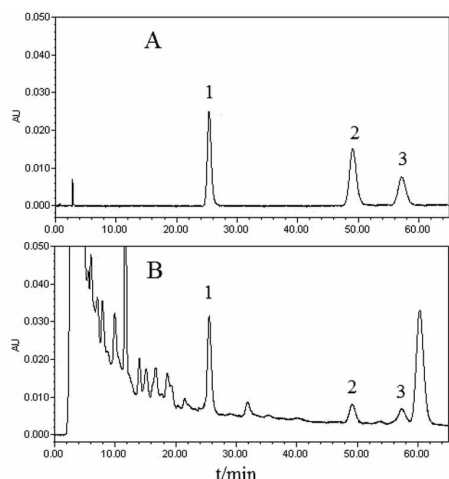


图2 复方垂盆草胶囊 HPLC 图

(A.混合对照品;B.复方垂盆草胶囊;1.槲皮素;2.山柰素;3.异鼠李素)

2.2.4 方法学考察

2.2.4.1 线性关系考察 分别精密量取槲皮素对照品贮备液、山柰素对照品贮备液和异鼠李素对照品贮备液各 1mL,置 50mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,即得含槲皮素 22.80 μ g、山柰素 20.20 μ g、异鼠李素 21.80 μ g 的混合对照品溶液。分别精密吸取上述混合对照品溶液 2.5 μ L、5 μ L、10 μ L、20 μ L 和 30 μ L,注入液相色谱仪,测定,记录峰面积。每份溶液连续进样 2 次,以对照品进样量(μ g)为横坐标(X),峰面积平均值为纵坐标(Y),进行线性回归。得槲皮素的回归方程为 $Y=4395.5X-42947$ ($r=0.9995$),山柰素的回归方程为 $Y=4527.3X-52684$ ($r=0.9996$),异鼠李素的回归方程为 $Y=2377.6X-41834$ ($r=0.9996$),结果表明槲皮素进样量在 57.0~684.0ng 范围内,山柰素进样量在 50.5~606.0ng 范围内,异鼠李素进样量在 54.5~654.0ng 范围内线性关系良好。

2.2.4.2 精密度试验 精密吸取上述混合对照品溶液 20 μ L,依法连续进样 6 次,记录峰面积,得槲皮素、山柰素和异鼠李素峰面积的 RSD 分别为 1.05%、1.05%和 1.00%,结果表明本法槲皮素、山柰素和异鼠李素精密度良好。

2.2.4.3 稳定性试验 取供试品溶液(批号 110309),每隔 2h 进样 1 次,每次精密吸取

10 μ L,注入液相色谱仪,测定,记录峰面积,共测定 5 次,槲皮素峰、山柰素峰和异鼠李素峰峰面积的 RSD 分别为 1.37%、1.49%、2.58%,表明供试品溶液中槲皮素、山柰素和异鼠李素在 8h 内稳定。

2.2.4.4 重复性试验 取同一批样品(批号 110309),按“2.3 供试品溶液的制备”项下方法制备 6 份供试品溶液。分别精密吸取以上供试品溶液各 10 μ L,注入液相色谱仪,测定,记录峰面积。每份溶液连续进样 2 次,以峰面积平均值按标准曲线法计算含量。槲皮素 0.6274mg/g ($RSD=1.41\%$),山柰素 0.2145mg/g ($RSD=2.67\%$),异鼠李素 0.3043mg/g ($RSD=2.82\%$)。

2.2.4.5 加样回收率试验 取批号 110309 的本品 6 份,每份 0.5g,精密称定,置索氏提取器中,分别精密加入槲皮素、山柰素和异鼠李素对照品贮备液 0.3mL (1.140mg/mL)、0.1mL (1.010mg/mL) 和 0.2mL (1.090mg/mL),按照“2.3 供试品溶液的制备”项下方法制备加样回收率试验用供试品溶液。分别精密吸取以上供试品溶液各 10 μ L,注入液相色谱仪,测定,记录峰面积,结果见表 1。槲皮素、山柰素和异鼠李素平均回收率分别为 97.63% ($RSD=1.57\%$)、96.37% ($RSD=1.21\%$)、95.85% ($RSD=1.01\%$)。

2.2.5 样品含量 取批号为 110307、110309、110311 的样品,每批 2 份,按建立的方法进行含量测定,结果见表 2。本品 3 批测试产品中槲皮素、山柰素和异鼠李素总量的平均含量为 0.7541mg/g,如以-20%为下限,含量限度应为含槲皮素、山柰素和异鼠李素总量不低于 0.6033mg/g。因此初步将含量限度定为:本品每粒含槲皮素、山柰素和异鼠李素总量为 0.6mg/g。

表1 3种成分加样回收率试验结果

成分	取样量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
槲皮素	0.5015	0.3146	0.342	0.6564	99.93	97.63	1.57
	0.5117	0.3210	0.342	0.6577	98.44		
	0.5082	0.3188	0.342	0.6538	97.94		
	0.5036	0.3160	0.342	0.6495	97.53		
	0.5165	0.3241	0.342	0.6511	95.63		
山柰素	0.5144	0.3227	0.342	0.6521	96.31	96.37	1.21
	0.5015	0.1076	0.101	0.2042	95.67		
	0.5117	0.1098	0.101	0.2083	97.56		
	0.5082	0.1090	0.101	0.2054	95.44		
	0.5036	0.1080	0.101	0.2049	95.92		
异鼠李素	0.5165	0.1108	0.101	0.2099	98.13	95.85	1.01
	0.5144	0.1103	0.101	0.2068	95.51		
	0.5015	0.1526	0.218	0.3608	95.50		
	0.5117	0.1557	0.218	0.3645	95.78		
	0.5082	0.1546	0.218	0.3624	95.30		
	0.5036	0.1532	0.218	0.3612	95.39		
	0.5165	0.1572	0.218	0.3650	95.33		
	0.5144	0.1565	0.218	0.3697	97.78		

(下转第 68 页)

则需轻清郁火,兼以养阴和胃,沙参、麦冬、石斛等药可用。但若胃虚过食冷物,抑遏阳气于脾土之火郁病,则需以升散之剂发之,如升麻、葛根之属,使得遂其炎上之性,内郁之火得以升发外散,火郁自除。

5 开痰郁

胃脘部邪气郁阻,或热郁灼津成痰,或湿郁凝聚成痰,或食积酿结成痰,痰气相阻,积郁胃脘,亦可为痛。痰郁之胃脘痛常伴有腹胀纳呆,甚或呕吐痰涎之症。痰郁中焦,痰郁水亦郁,故腹胀纳呆。一旦遇上升之气,则痰与水并出,所以说胃痛甚者会出现呕吐痰涎,此常为痰郁所致也。痰郁,化之吐之,当以陈皮、半夏、贝母、桔梗等清化痰郁,临床观察发现,治疗胃脘痛加入陈皮、半夏之属,开气郁,消痰郁,常可起到郁消痛除之效。

6 活血郁

胃脘痛初病在经,久病入络,郁滞日久,循行之胃络血瘀,导致胃络血郁。“胃病久发,必有聚瘀”,故慢性胃炎多兼有血瘀。临床胃镜证实,慢性胃炎患者胃黏膜凹凸不平,有息肉,胃黏膜活检示不典型增生或肠腺化生^[3]。故胃痛,尤其是慢性胃炎所致的血郁胃痛患者治疗时,需加辛柔和血、辛香理气之药,如郁金、延胡索、川芎、赤芍等,以活血化瘀、调血解郁,血郁得解,血瘀得散,则胃络和而不痛。

7 消食郁

胃脘的主要作用是受纳腐熟水谷。水谷食物入口,经过食道,贮纳于胃,故称胃为“水谷之海”。胃

中的饮食物,经过胃的腐熟消磨,下传于小肠,其精微通过脾的运化,以供养周身。若饮食不节,食郁气滞,阻遏胃气运行,使脏气不平,痞隔于中,饮食通症,变乱肠胃,发为疼痛。正如《素问·痹论》中所说“饮食自倍,肠胃乃伤”,日积月深,故胃脘痛甚。食郁之胃痛常表现为胀满不食,疼痛拒按,山楂、神曲、砂仁、槟榔,消食解郁,化积导滞之味可为治。

正所谓七郁不独,相因为病,七种郁证可兼加,亦可转化。胃脘痛者,往往气郁则生湿,湿郁则成热,热郁则成痰,痰郁则血不行,血郁则食不化。解郁七法需得兼用,则胃脘痛才可得治。“一有所郁,通之而已”,临床解郁诸方药皆以通为法。扩展治疗其他各类疾病,也是如此,亦需七郁兼解,共使脏腑功能恢复健运。诸解郁之法并用,则郁散邪去,脏腑清灵,身不为病。

参考文献

- [1] 罗瑞林.《黄帝内经》疼痛理论探析[J].中医药学刊,2004,22(7):1312.
- [2] 蔡春江,崔福义,程丽坤,等.浅论泄泻治疗十法[J].中国中医药现代远程教育杂志,2014,12(23):174.
- [3] 周仲瑛.中医内科学[M].北京:中国中医药出版社,2007:187.

第一作者:朱其恩(1973—),男,本科学历,中医内科学专业。

通讯作者:蔡春江,医学博士,主任中医师,硕士生导师。caichj326@sina.com

收稿日期:2015-07-26

编辑:吴宁

(上接第66页)

表2 样品含量测定结果(n=2)

批号	槲皮素含量 (mg/粒)	山柰素含量 (mg/粒)	异鼠李素 (mg/粒)	总黄酮醇苷 (mg/粒)
110307	0.4198	0.1402	0.2050	0.7650
110309	0.4129	0.1390	0.1975	0.7494
110311	0.4061	0.1403	0.2015	0.7479

3 讨论

垂盆草为复方垂盆草胶囊处方中君药,具有利湿退黄、清热解毒的功效,黄酮及其苷类化合物是其主要成分之一。对含垂盆草制剂有学者以槲皮素为指标进行了含量测定研究^[1-3],另有学者以异鼠李素为指标进行了含量测定研究^[4],此外有学者采用比色法对含垂盆草制剂中的总黄酮含量进行了测定^[5]。基于2010版中国药典中垂盆草药材的质量标准^[6],本研究以垂盆草对照药材为对照建立复方垂盆草胶囊中垂盆草的TLC鉴别方法,采用HPLC法,选取槲皮素、山柰素、异鼠李素3种成分为指标同时测定其含量,建立了复方垂盆草胶囊的质量控制方法。方法学考察表明,该方法简便快速、稳定可靠、重复性好,可用于复方垂盆草胶囊的质量控制。

参考文献

- [1] 李锋涛,潘金火.复方垂盆草胶囊的质量标准研究[J].中成药,2006,28(2):197.
- [2] 李家春,彭国平,孙兰.RP-HPLC法测定垂盆草胶囊中槲皮素的含量[J].中华中医药学刊,2007,25(5):987.
- [3] 杨帆,邓开英.高效液相色谱法测定垂盆草胶囊中槲皮素含量[J].中国药业,2007,16(3):17.
- [4] 汪妍,李群力,麻佳蕾,等.垂盆草滴丸的制备及质量控制[J].中国医院药学杂志,2009,29(24):2122.
- [5] 秦洁,马果玉,马剑平.垂盆草颗粒质量标准研究[J].中成药,2010,32(1):168.
- [6] 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,2010:198.

第一作者:顾翔(1980—),男,本科学历,主管中药师,中药学专业。

通讯作者:包贝华,硕士,副教授。scotter01@163.com

收稿日期:2015-12-02

编辑:吴宁