

养阴降压胶囊的质量标准研究

商桂春,王广录,付永强

(山东凤凰制药药物研究所,山东 东营 257400)

养阴降压胶囊是部颁标准品种,由龟甲(沙烫)、珍珠层粉、白芍、牛黄、五味子、天麻、钩藤等 16味药组成,具有滋阴潜阳、平肝安神、活血通络之功效,用于肝肾阴虚、肝阳上亢引起的高血压病,疗效显著。原标准中只建立了白芍的薄层鉴别。为了更好的控制产品质量,保证疗效,本实验采用薄层色谱法对牛黄、五味子进行定性鉴别,采用 HPLC法对制剂中芍药苷进行了含量测定。

1 仪器与试剂

美国 Waters 高效液相色谱仪(2487型双波长紫外检测器,515单泵),大连江申色谱工作站,KQ-250型超声波清洗器(江苏省昆山市超声仪器有限公司)。

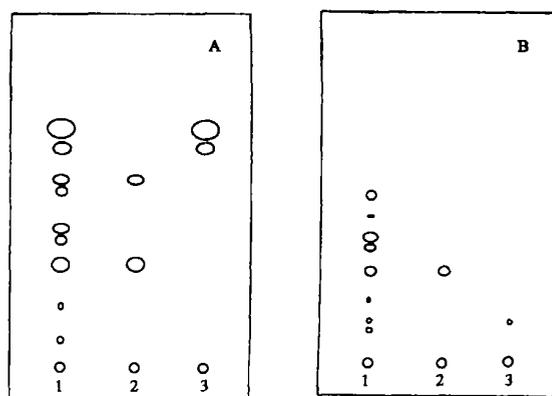
芍药苷、胆酸、去氧胆酸、五味子甲素对照品均购于中国药品生物制品检定所;甲醇为色谱纯,其余均为分析纯,水为重蒸馏水。养阴降压胶囊及各阴性对照品均由山东凤凰制药药物研究所提供。

2 方法与结果

2.1 牛黄的鉴别:取本品内容物 1.5 g,加氯仿 30 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加乙醇 2 mL使溶解,作为供试品溶液。同法制成缺牛黄阴性对照溶液。另取胆酸、去氧胆酸对照品,加乙醇制成 1 mg/mL的混合溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法《中华人民共和国药典》2000年版一部附录 VI B)试验,吸取上述 3种溶液各 4 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以异辛烷-醋酸乙酯-冰醋酸(15:7:5)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10%硫酸乙醇溶液,在 105 $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰,置紫外光灯(365 nm)下检视。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同的亮蓝色荧光斑点,而阴性对照无相应的斑点(图 1-A)。

2.2 五味子的鉴别:取本品内容物 8 g,加氯仿 40 mL,加热回流 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加氯仿 3 mL使溶解,作为供试品溶液。同法制成缺五味子阴性对照溶液。另取五味子甲素对照品,加氯仿制成 1 mg/mL的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法

(《中华人民共和国药典》2000年版一部附录 VI B)试验,吸取供试品溶液、阴性对照溶液各 6 μ L,对照品溶液 2 μ L 分别点于同一硅胶 GF254 薄层板上,以石油醚(30 $^{\circ}$ C~60 $^{\circ}$ C)-甲酸乙酯-甲酸(15:5:1)的上层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(254 nm)下检视。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,而阴性对照无相应的斑点(图 1-B)。



1 供试品
2 胆酸、去氧胆酸混合物
3 阴性对照
1-sample
2-mixed reference substances of cholic acid and decholin
3-negative sample

1 供试品
2 五味子甲素
3 阴性对照
1-sample
2-deoxyschizandrin
3-negative sample

图 1 牛黄(A)和五味子(B)的 TLC 图谱

Fig. 1 TLC chromatograms of *Calculus Bovis* (A) and *Fructus Schisandrae* (B)

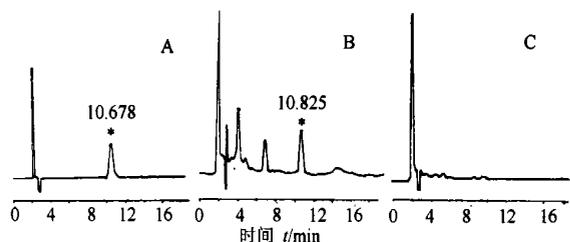
2.3 芍药苷的含量测定

2.3.1 色谱条件与系统适用性试验:瑞士 Spherigel C₁₈ 柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m)(大连江申分离科学技术公司),流动相为甲醇-水-冰醋酸(28:72:0.5),检测波长为 230 nm,柱温为室温,流速为 1 mL/min。

2.3.2 对照品溶液的制备:精密称取芍药苷对照品适量,加甲醇制成 0.1 mg/mL 的溶液,摇匀,即得(浓度为 0.126 mg/mL)。

2.3.3 供试品溶液的制备: 取样品约 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 加甲醇 50 mL, 再精密称定, 超声处理 30 min, 取出, 放冷, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。同法制成空白芍药阴性对照溶液。

2.3.4 对照试验: 按上述仪器和试验条件, 将芍药苷对照品溶液、供试品溶液及空白芍药阴性对照溶液分别进样测定。可看出其他成分对芍药苷的测定无干扰(图 2)。



* 芍药苷

* paeoniflorin

图 2 芍药苷对照品 (A) 养阴降压胶囊供试品 (B) 和阴性对照 (C) 的 HPLC 色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of paeoniflorin (A), Yangyin Jiangya Capsule (B) and negative sample (C)

2.3.5 线性关系考察: 精密吸取芍药苷对照品溶液 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5, 15 μL, 分别注入高效液相色谱仪, 进行测定。以芍药苷峰面积对进样量进行线性回归, 得回归方程 $Y = 36261X - 9.4553 \times 10^5$, $r = 1.000$ 。结果表明进样量在 0.3165~1.8990 μg 呈良好的线性关系。

2.3.6 精密度试验: 精密吸取芍药苷对照品溶液 7.5 μL, 重复进样 5 次, 测定芍药苷峰面积, RSD 为 0.55%。表明仪器精密度良好。

2.3.7 稳定性试验: 取批号为 0112214 的养阴降压胶囊, 精密称定 1.0032 g, 按 2.3 项下方法制备, 精密吸取 10 μL, 每隔 2 h 进样测定一次, 测定芍药苷峰面积, 其 RSD 为 0.23% ($n = 5$)。结果表明该成分的溶液在 8 h 内稳定性良好。

2.3.8 重现性试验: 取批号为 0112215 的养阴降压胶囊供试品, 精密称定 5 份, 制备溶液, 精密吸取溶液各 10 μL, 进样测定芍药苷含量, 其 RSD 为 0.29%。结果表明本法重现性良好。

2.3.9 回收率试验: 精密称取已知含量的批号为

0112215 的养阴降压胶囊 5 份, 分别加入一定量的芍药苷对照品, 制备溶液, 并进样测定, 计算得芍药苷平均回收率为 98.24%, RSD 为 2.18%, 结果表明本方法可行。

2.3.10 含量测定: 将连续制备的 7 批样品, 制备溶液, 进样测定, 结果见表 1。根据实验数据, 暂规定本品每粒含芍药苷不得低于 2.1 mg。

表 1 养阴降压胶囊中芍药苷含量测定结果 ($n = 3$)

Table 1 Paeoniflorin in Yangyin Jiangya Capsule ($n = 3$)

批号	芍药苷含量 / (mg · 粒 ⁻¹)
0112213	2.41
0112214	2.33
0112215	2.45
0112216	2.36
0112217	2.50
0112218	2.78
0112219	2.81

3 讨论

3.1 为了提高养阴降压胶囊的质量标准, 按照新药申报的相关技术要求重新对方中天麻、人参、钩藤、夏枯草、青木香、槐米、吴茱萸、大黄等诸药进行了质量标准的研究工作, 薄层鉴别皆不理想。方中白芍具有解痉、镇痛、镇静、抗惊等作用^[1], 且在方中用药量最大, 因此选白芍中有效成分芍药苷为指标制定定量标准。

3.2 含白芍复方制剂中, 芍药苷的含量测定方法已报道, 有薄层扫描法^[2]、高效液相色谱法^[3]等。薄层扫描法操作较繁琐, 且影响结果的因素较多, 因此选用高效液相色谱法进行含量测定。其中流动相有的采用甲醇-水或乙腈-水等, 本实验在摸索条件时, 发现皆不理想, 改用甲醇-冰醋酸-水 (28: 72: 0.5) 能使各峰得到较好分离, 且基线稳定。

3.3 本实验鉴别及含量测定方法经各项试验考察, 结果表明方法灵敏、可靠, 重现性好, 能较好的控制产品的质量。

References

[1] Wang Y X, Chen M Z, Xu S Y. Analgesic effect of total glucosides from *Radix Paeoniae Alba* [J]. *Chin J Pharmacol Toxicol* (中国药理学与毒理学杂志), 1998, 2(1): 6-9.
 [2] Li X R, Wen B Y, Li J Q, et al. Determination of paeoniflorin in Jiangzhi Yihao Oral Solution [J]. *Chin J Hosp Pharm* (中国医院药学杂志), 1999, 19(6): 335-337.
 [3] Zhang G G, Xu S X, Zhou X M, et al. Determination of paeoniflorin in Qizhi Weitong Granula by HPLC [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 1998, 15(4): 260-263.