

# 复方芪麻胶囊的质量标准研究<sup>△</sup>

孙冬梅<sup>1\*</sup>, 林晓燕<sup>1,2</sup>, 李素梅<sup>1</sup>, 江洁怡<sup>1</sup>, 罗文汇<sup>1</sup>, 陈雪<sup>1,2</sup> (1. 广东省中医药工程技术研究院/广东省中医药研究开发重点实验室, 广州 510095; 2. 广州中医药大学附属广东第二中医院, 广州 510405)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)18-2553-04  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.18.30

**摘要** 目的: 建立复方芪麻胶囊的质量标准。方法: 采用薄层色谱法(TLC)对制剂中黄芪、天麻、化橘红和川芎进行定性鉴别; 采用高效液相色谱法测定制剂中天麻素和对羟基苯甲醇的含量; 色谱柱为 Waters XBridge C<sub>18</sub>, 流动相为乙腈-0.05% 磷酸溶液(3:97, V/V), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 220 nm, 柱温为 25 °C, 进样量为 10 μL。结果: 黄芪、天麻、化橘红和川芎的 TLC 图斑点清晰, 分离度好, 阴性对照无干扰。天麻素、对羟基苯甲醇检测质量浓度线性范围分别为 7.97~59.76 μg/mL ( $r=0.999\ 5$ )、4.27~32.04 μg/mL ( $r=0.999\ 9$ ); 精密性、稳定性、重复性试验的 RSD < 1.0%; 加样回收率分别为 98.98%~100.11% (RSD = 0.35%,  $n=9$ )、98.74%~100.23% (RSD = 0.43%,  $n=9$ )。结论: 该研究所建标准可用于复方芪麻胶囊的质量控制。

**关键词** 复方芪麻胶囊; 质量标准; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

## Study on Quality Standard for Compound Qima Capsules

SUN Dongmei<sup>1</sup>, LIN Xiaoyan<sup>1,2</sup>, LI Sumei<sup>1</sup>, JIANG Jieyi<sup>1</sup>, LUO Wenhui<sup>1</sup>, CHEN Xue<sup>1,2</sup> (1. Guangdong Provincial Institute of TCM Engineering Technology Research/Guangdong Provincial Key Lab of Research and Development in TCM, Guangzhou 510095, China; 2. Guangdong Second Chinese Medical Hospital Affiliated to Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510405, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the quality standard for Compound qima capsules. METHODS: TLC was used for the qualitative identification of *Radix astragali*, *Gastrodia elata*, Pummelo Peel and *Ligusticum chuanxiong*. HPLC method was adopted for the contents determination of gastrodin and gastrodigenin. The determination was performed on Waters XBridge C<sub>18</sub> column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.05% phosphoric acid (3:97, V/V) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelength was set at 220 nm, column temperature was 25 °C and sample size was 10 μL. RESULTS: The TLC spots of *R. astragali*, *G. elata*, Pummelo Peel and *L. chuanxiong* were clear and well separated without the interference of negative samples. The linear ranges of gastrodin and gastrodigenin were 7.97-59.76 μg/mL ( $r=0.999\ 5$ ), 4.27-32.04 μg/mL ( $r=0.999\ 9$ ). RSDs of precision, stability and repeatability tests were all lower than 1.0%. Recoveries of them were 98.98%-100.11% (RSD = 0.35%,  $n=9$ ), 98.74%-100.23% (RSD = 0.43%,  $n=9$ ), respectively. CONCLUSIONS: Established method can be used for quality control of Compound qima capsules.

**KEYWORDS** Compound qima capsules; Quality standard; TLC; HPLC

复方芪麻胶是由黄芪、天麻、茯苓、法半夏、化橘红、泽泻、川芎 7 味中药经水煎浓缩制备而成, 具有健脾益气、化痰通络的功效, 用于治疗高血压气虚痰浊型。经广州中医药大学附属第二中医院多年临床使用证实, 其具有确切的疗效, 但一直没有完善的质量标准, 缺乏定性鉴别和含量测定项目。为全面有效地控制该制剂质量, 并确保临床用药的安全有效, 本试验采用薄层鉴别法(TLC)对黄芪、天麻、化橘红和川芎 4 味药材进行定性鉴别, 同时采用高效液相色谱法(HPLC)测定制剂中天

麻素和对羟基苯甲醇含量, 为其质量标准的制定提供一定科学依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

Waters e2695-2489 型 HPLC 仪, 包括 DAD 检测器(美国 Waters 公司); AT-201 型电子分析天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司); KQ5200DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司, 功率: 700 W, 频率: 40 kHz); HH 型数显恒温水浴锅(金控市科技仪器有限公

柚皮苷、橙皮苷和黄芩苷[J]. 中成药, 2015, 37(9):

△ 基金项目: 广东省中医药局中医药强省专项(No. 粤中医办函[2015]102号)

\* 主任中药师, 教授。研究方向: 中药质量评价。E-mail: 1026866717@qq.com

1955-1958.

[14] 孙永慧, 李文春. HPLC 同时测定双黄连粉针剂中 5 种成分的含量[J]. 中成药, 2010, 32(1): 65-68.

(收稿日期: 2016-08-12 修回日期: 2016-12-21)

(编辑: 刘柳)

司); DHG-9070A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司); L-500 型离心机(上海利鑫离心机有限公司)。

## 1.2 药品与试剂

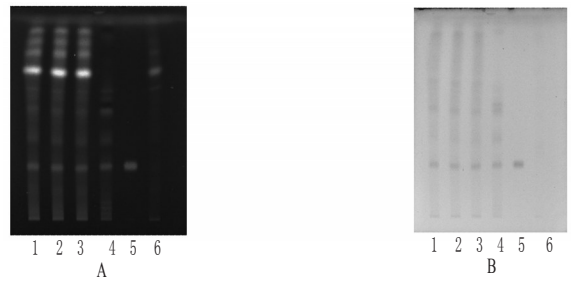
复方芪麻胶囊(广东省第二中医院制剂室自制,批号:140301、140302、140303,规格:0.5 g/粒);天麻对照药材(批号:120944-200507)、黄芪对照药材(批号:110781-200613)、化橘红对照药材(批号:121165-200502)、川芎对照药材(批号:120918-201110)、天麻素对照品(批号:110807-200205,纯度:98%)、黄芪甲苷对照品(批号:110781-200613,纯度:98%)、柚皮苷对照品(批号:110722-201111,纯度:98%)均购自中国食品药品检定研究院;对羟基苯甲醇对照品(美国 Sigma-Aldrich 公司,批号:BCBM1771V,纯度:99%);硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工厂);乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为蒸馏水。

## 2 方法与结果

### 2.1 定性鉴别

2.1.1 黄芪 取样品内容物 3.5 g,加水 40 mL,加热使溶解,以半径为 0.89 cm、3 000 r/min 离心 5 min,取上清液用水饱和的正丁醇振摇提取 2 次(每次 30 mL),合并正丁醇液,用氨试液洗涤 3 次(每次 30 mL),弃氨液,正丁醇液蒸干,残渣加水 5 mL 使溶解,放冷;经大孔吸附树脂柱(内径 1.5 cm,柱高 12 cm),以水 50 mL 洗脱,弃去水液;以 40% 乙醇溶液 30 mL 洗脱,弃去洗脱液;再以 70% 乙醇溶液 80 mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加甲醇 2 mL 使溶解,作为供试品溶液<sup>[1-2]</sup>。另取黄芪甲苷对照品适量,加甲醇制成质量浓度为 1 mg/mL 的对照品溶液。再取黄芪对照药材 3 g,加水 50 mL,煮沸 30 min,滤过,滤液加水饱和的正丁醇振摇提取,同供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。按复方芪麻胶囊处方和工艺制备缺黄芪的阴性样品,并按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按 TLC 法[2015 年版《中国药典》(四部)]<sup>[3]</sup>试验,吸取上述 4 种溶液各 10  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲酸-水(10:20:11:5, V/V/V/V)于 10  $^{\circ}$ C 以下放置的下层溶液为展开剂,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,置日光下检视,同时置紫外光灯(365 nm)下检视。结果,供试品色谱中,在与对照药材和对照品色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰,详见图 1。

2.1.2 天麻 取样品内容物 1.5 g,加 70% 乙醇溶液 5 mL,超声处理 30 min,滤过,取续滤液作为供试品溶液。另取天麻素对照品适量,加甲醇制成质量浓度为 1 mg/mL 的对照品溶液。再取天麻对照药材 0.5 g,加 70% 乙醇溶液 5 mL,同供试品溶液制备方法制成对照药材溶液<sup>[4]</sup>。按复方芪麻胶囊处方和工艺制备缺天麻的阴性样品,并按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。



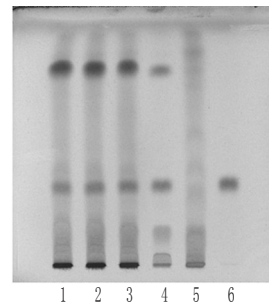
A.紫外光下检视;B.日光下检视;1~3.供试品;4.对照药材;5.对照品;6.阴性对照

A. observed under UV-light; B. observed under light; 1-3. test samples; 4. reference substance; 5. substance control; 6. negative control

图 1 黄芪的薄层色谱图

### Fig 1 TLC chromatograms of *Radix astragali*

按 TLC 法[2015 年版《中国药典》(四部)]<sup>[3]</sup>试验,吸取上述 4 种溶液各 5  $\mu$ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-甲醇-水(9:1:0.2, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10% 磷钼酸乙醇溶液,在 105  $^{\circ}$ C 加热至斑点显色清晰,置日光下检视。结果,供试品色谱中,在与对照药材和对照品色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰,详见图 2。



1~3.供试品;4.对照药材;5.阴性对照;6.对照品

1-3. test samples; 4. reference substance; 5. negative control; 6. substance control

图 2 天麻的薄层色谱图

### Fig 2 TLC chromatograms of *Gastrodia elata*

2.1.3 化橘红 取样品内容物 2 g,加水 30 mL 使溶解,以半径为 0.89 cm、3000 r/min 离心 5 min,取上清液,用乙酸乙酯振摇提取 2 次(每次 20 mL),合并乙酸乙酯液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取柚皮苷对照品适量,加甲醇制成质量浓度为 1 mg/mL 的对照品溶液。再取化橘红对照药材 1 g,加水 100 mL,煮沸 30 min,滤过,滤液用乙酸乙酯振摇提取 2 次,同供试品溶液制备方法制成对照药材溶液<sup>[5-6]</sup>。按复方芪麻胶囊处方和工艺制备缺化橘红的阴性样品,并按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按 TLC 法[2015 年版《中国药典》(四部)]<sup>[3]</sup>试验,吸取上述供试品溶液、阴性对照溶液各 10  $\mu$ L,对照品溶液 4  $\mu$ L,对照药材溶液 2  $\mu$ L 分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以乙酸乙酯-甲醇-水(100:17:13, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以三氯化铝试液,在 105  $^{\circ}$ C 加热 1 min,置紫外光灯(365 nm)

下检视。结果,供试品色谱中,在与对照药材和对照品色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰,详见图3。

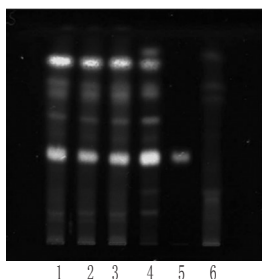


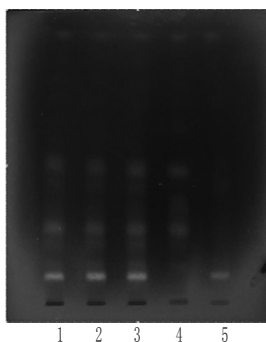
图3 化橘红的薄层色谱图

1~3.供试品;4.对照药材;5.对照品;6.阴性对照

Fig 3 TLC chromatograms of Pummelo Peel

1-3.test samples; 4.reference substance; 5.substance control; 6.negative control

2.1.4 川芎 取样品内容物5 g,加甲醇30 mL,超声处理30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水20 mL使溶解,用乙酸乙酯振摇提取2次,每次30 mL,合并乙酸乙酯液,用5%碳酸氢钠溶液振摇提取2次,每次30 mL,合并5%碳酸氢钠溶液,加稀硫酸调pH至1,用乙醚振摇提取2次,每次30 mL;合并乙醚液,挥干,残渣加甲醇1 mL使溶解,作为供试品溶液。另取川芎对照药材2 g,加水100 mL,微沸1 h,滤过,滤液浓缩至约5 mL,加硅藻土适量吸附,蒸干,转移至锥形瓶中,加甲醇30 mL,同供试品溶液制备方法制成对照药材溶液<sup>[7]</sup>。按复方芪麻胶囊处方和工艺制备缺川芎的阴性样品,并按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按TLC法[2015年版《中国药典》(四部)]<sup>[3]</sup>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,以己烷-二氯甲烷-乙酸乙酯-甲酸(8:2:4:0.5, V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以含1%对二甲氨基苯甲醛的10%硫酸乙醇溶液,在105 ℃加热3~4 min,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰,详见图4。



1~3.供试品;4.对照药材;5.阴性对照

1-3.test samples; 4.reference substance; 5.negative control

图4 川芎的薄层色谱图

Fig 4 TLC chromatograms of Ligusticum chuanxiong

## 2.2 含量测定

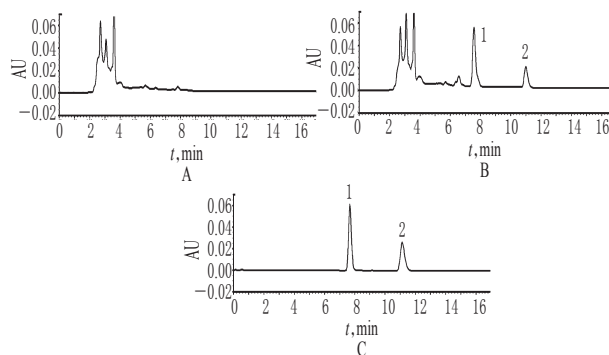
2.2.1 色谱条件 色谱柱:Waters XBridge C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-0.05%磷酸溶液(3:97, V/V);流速:1.0 mL/min;检测波长:220 nm;柱温:25 ℃;进样量:10 μL<sup>[7]</sup>。

2.2.2 混合对照品溶液的制备 精密称取待测成分对照品适量,置于50 mL量瓶中,加乙腈-水(3:97, V/V)溶解并定容,制成天麻素、对羟基苯甲醇质量浓度分别为0.199 2、0.106 8 mg/mL的混合对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取粉碎均质后的样品1.5 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入40%乙醇溶液50 mL,密塞,称定质量,超声处理30 min,取出,放冷,再次称定质量,加40%乙醇溶液补足减失的质量,摇匀,滤过,精密量取续滤液10 mL,浓缩至近干,残渣加乙腈-水(3:97, V/V)溶解,转移至25 mL量瓶中,加乙腈-水(3:97, V/V)定容,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.4 阴性对照溶液的制备 按复方芪麻胶囊处方和工艺制备缺天麻的阴性样品,并按“2.2.3”项下方法制成阴性对照溶液。

2.2.5 专属性试验 分别取上述混合对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各10 μL,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图5。结果,阴性对照色谱图在对照品色谱图相应的位置上无对应色谱峰出现,表明该方法专属性较好。



A.阴性对照;B.供试品;C.对照品;1.天麻素;2.对羟基苯甲醇

A.negative control; B.test sample; C.substance control; 1.gastrodin; 2.gastrodigenin

图5 高效液相色谱图

Fig 5 HPLC chromatograms

2.2.6 线性关系考察 分别精密量取“2.2.2”项下混合对照品溶液0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.5 mL,分别置于5 mL量瓶中,加乙腈-水(3:97, V/V)定容,制成系列混合对照品溶液。精密量取上述系列混合对照品溶液各10 μL,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以待测成分质量浓度(x, μg/mL)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得天麻素、对羟基苯甲醇回归方程分别为 $y=1.74 \times 10^3 x + 5.63 \times 10^3$  ( $r=0.999 5$ )、 $y=3.44 \times 10^3 x - 6 \times 10^3$  ( $r=0.999 9$ )。结果表明,天麻素、对羟基苯甲醇检测质量浓度线性范围分别为7.97~59.76、4.27~32.04 μg/mL。

2.2.7 精密度试验 取“2.2.2”项下混合对照品溶液适量,按“2.2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,天麻素、对羟基苯甲醇峰面积的RSD分别为0.28%、0.45% ( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

2.2.8 稳定性试验 取“2.2.3”项下供试品溶液(批号:140301)适量,分别于室温下放置0、2、4、6、8、10、12 h时按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,天麻素、对羟基苯甲醇峰面积的RSD分别为0.20%、0.16% ( $n=7$ ),表明供试品溶液室温放置12 h内基本稳定。

2.2.9 重复性试验 精密称取同一批样品(批号:140301)适量,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,天麻素、对羟基苯甲醇峰面积的RSD分别为0.82%、0.67% ( $n=6$ ),表明本方法重复性良好。

2.2.10 加样回收率试验 取已知含量样品(批号:140301)适量,每份1.5 g,共6份,分别加入低、中、高质量的待测成分对照品,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果( $n=9$ )

Tab 1 Results of recovery test( $n=9$ )

待测成分	样品含量,mg	加入量,mg	测得量,mg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
天麻素	2.960 9	1.494 0	4.446 7	99.45	99.52	0.35
	2.956 2	1.494 0	4.436 1	99.06		
	2.959 3	1.494 0	4.438 1	98.98		
	2.959 7	2.988 0	5.940 1	99.75		
	2.963 3	2.988 0	5.938 1	99.56		
	2.960 5	2.988 0	5.951 9	100.11		
	2.955 8	4.501 9	7.445 1	99.72		
	2.958 1	4.501 9	7.442 3	99.61		
	2.961 7	4.501 9	7.438 3	99.44		
	对羟基苯甲醇	0.751 6	0.373 8	1.123 3		
0.766 2		0.373 8	1.138 9	99.71		
0.760 1		0.373 8	1.129 2	98.74		
0.770 3		0.747 6	1.516 9	99.87		
0.756 2		0.747 6	1.504 3	100.07		
0.750 3		0.747 6	1.496 1	99.76		
0.761 3		1.121 4	1.877 6	99.55		
0.758 9		1.121 4	1.876 2	99.63		
0.753 1		1.121 4	1.877 1	100.23		

2.2.11 样品含量测定 取3批样品各适量,分别按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算样品含量,结果见表2。

### 3 讨论

表2 样品含量测定结果( $n=3$ ,mg/g)

Tab 2 Results of contents determination of samples ( $n=3$ ,mg/g)

样品批号	天麻素	对羟基苯甲醇
140301	3.99	0.99
140302	3.98	1.01
140303	4.01	1.00

本试验对复方苈麻胶囊中黄芪、化橘红、天麻、川芎均进行了TLC鉴别,结果表明方法专属性强,分离度良好,无拖尾现象;在茯苓、泽泻、法半夏鉴别中,笔者按2015年版《中国药典》(一部)茯苓、泽泻、法半夏项下方法均进行了鉴别,结果在与对照药材和对照品色谱相应位置上,显相同颜色的斑点,但阴性有干扰,故未列入本次考察。

笔者分别比较了柱温为20、25、30 ℃,流速为0.8和1.0 mL/min条件下的色谱分离效果。结果表明,柱温为25 ℃,流速为1.0 mL/min时基线平稳,分离效果较好。笔者共考察了3种不同品牌的色谱柱[Agilent TC-C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm), Waters Xbridge C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm), Merk Hibar®250-4, 6(250 mm×4.6 mm, 5 μm)],结果, Waters Xbridge C<sub>18</sub>分离效果较好。

综上所述,本研究所建标准可用于复方苈麻胶囊的质量控制。

### 参考文献

- [1] 巩伟,赵豫,赵庆华,等.十一味参龙口服液的质量标准研究[J].中国药房,2014,25(35):3323-3327.
- [2] 聂晶,苗水,李雯婷,等.黄芪浸膏质量标准的研究[J].中成药,2015,37(7):1471-1476.
- [3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:57.
- [4] 孙丹丹,闫雪生,李岩.菊葛天麻颗粒质量标准研究[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(8):86-88.
- [5] 张昀,刘路,李钦.明目颗粒质量标准研究[J].河南大学学报(医学版),2013,32(3):184-186.
- [6] 彭维,苏薇薇,古淑仪,等.原创中药新药红珠胶囊质量标准的研究[J].中山大学学报(自然科学版),2013,52(6):110-113.
- [7] 杨金华,郑弘.鱼花糖浆质量标准研究[J].中医研究,2010,23(7):20-22.

(收稿日期:2016-08-19 修回日期:2016-10-23)

(编辑:张 静)