

柴苓降脂颗粒质量标准研究^{*}

范志刚^{1**} 范志强² 贾高锁³ 梁培福¹ 郭淑玲² 解鹏飞¹

(1. 临汾职业技术学院, 山西 临汾 041000; 2. 临汾职业技术学院附属第二医院, 山西 临汾 041000;

3. 临汾市第二人民医院, 山西 临汾 041000)

摘 要:目的 建立柴苓降脂颗粒质量标准。方法 采用 TLC 方法对方处方的主要药味柴胡、丹参、五味子进行薄层鉴别; 采用 HPLC 测定其中主药白芍中芍药苷含量。结果 薄层鉴别方法能检测出柴胡、丹参、五味子; 有效成分芍药苷在 0.125 μg ~ 1.992 μg 范围内线性关系良好, 测定的平均回收率为 99.13 %, RSD 为 1.36 %。结论 所建立的方法能够对方处方的主要药味准确、快速的进行定性、定量检测, 可作为柴苓降脂颗粒质量标准。

关键词:柴苓降脂颗粒; 芍药苷; 薄层鉴别; 含量测定

中图分类号: R 965 文献标识码: A 文章编号: 1002-168X(2015)05-0080-04

DOI: 10.13424/j.cnki.jsctcm.2015.05.029

Study on Quality Standard of ChaiLing Jiangzhi Granule

Fan Zhigang¹, Fan Zhiqiang², Jia Gaosuo³, Liang Peifu¹, Guo Shuling², Xie Pengfei¹

(1. Linfen Vocational and Technical College, Linfen 041000, China;

2. The Second Hospital Affiliated to Linfen Vocational and Technical College, Linfen 041000, China;

3. The Second Linfen people's Hospital, Linfen 041000, China)

Abstract Objective: To establish the quality controlling standard for ChaiLing Jiangzhi Granule. **Methods:** TLC identification was conducted to identify Chaihu, Danshen and Wuweizi in the prescription; the content of paeoniflorin in Baishao the main herb in the prescription was determined by HPLC. **Results:** Chaihu, Danshen and Wuweizi could be detected by TCL; the linear relationship of the active components in paeoniflorin was good in the range from 0.125 μg to 1.992 μg , the average recovery rate and RSD were 99.13 % and 1.36 % respectively. **Conclusion:** The established method can accurately and rapidly conduct the qualitative and quantitative detection of the main herbs in ChaiLing Jiangzhi Granule which can be considered as the standard to control its quality.

Keywords ChaiLing Jiangzhi Granule; paeoniflorin; TLC; determination of content

近年来随着人们生活节奏和生活方式的不断改变, 脂肪肝、高脂血症的发病率在逐年升高, 且呈低龄化发展趋势, 而非酒精性脂肪性肝病患者已成为 2 型糖尿病和心血管等疾病的高危人群, 积极干预和及时治疗具有重要意义, 但目前尚没有专门治疗该疾病较好的药物。柴苓降脂颗粒为临汾职业技术学院附属医院(临汾市第二人民医院)

新研制的院内制剂, 由柴胡、茯苓、白芍、丹参、五味子等药味组成。具有健脾疏肝理气、化痰逐瘀降脂之功效, 临床用于肝脾失调、痰湿阻络所致的脂肪肝, 或伴有高脂血症, 症见肝区不适或隐痛, 周身困重等。该制剂处方曾以汤剂临床应用多年已取得良好疗效^[1-2], 为了更方便患者用药, 在尊重临床应用方式基础上经审批改变剂型将其制成

* 基金项目: 山西省科技攻关计划项目(20090312023)

** 通讯作者: 范志刚(1955-), 男, 本科, 副教授, 研究方向: 肝病中医药治疗。E-mail: fzg606@163.com

颗粒剂,经临汾市药检部门进行复合检验合格并取得药监局批准之后,在柴苓降脂颗粒联合科研单位的临汾市第二人民医院、临汾市医院、候马市医院和临汾中医院的门诊进一步观察,并获得了预期的临床疗效证实^[3-4]。而为了严格控制柴苓降脂颗粒的质量,通过制剂研究对制剂中白芍所含有效成分芍药苷进行含量测定,并对主要药味柴胡、丹参、五味子等进行了专属性较强的薄层色谱鉴别研究,取得了较好的结果。通过系统研究,建立了对处方中的主要药味准确、快速进行定性、定量检测的方法^[5],可作为柴苓降脂颗粒质量标准。现报告如下。

1 材料与仪器

Waters600 液相色谱仪(Waters2487 紫外检测器);芍药苷、丹参素钠、五味子醇甲、柴胡对照药材由中国药品生物制品检定所提供(批号分别为:110736-201035、110855-200809、110857-200507、120992-200605);乙腈为色谱纯级别,其余试剂均为分析纯,三批样品为自制样品(批号为:100301、100302、100303)。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别

2.1.1 柴胡的薄层鉴别^[6-7] 取本品内容物15 g,研成细粉,加甲醇75 mL,超声提取30分钟,滤过,滤液蒸干,残渣加水25 mL溶解完全,以水饱和正丁醇提取2次,每次20 mL,合并正丁醇液,采用氨试液洗涤2次,每次20 mL,再以正丁醇饱和的水15 mL洗涤,弃去洗涤液,取正丁醇液,置水浴上蒸干,残渣加甲醇1 mL使溶解,作为供试品溶液。另按照处方组成及颗粒制备工艺制成缺柴胡阴性样品,同法制成阴性供试品。取柴胡对照药材1 g,加甲醇20 mL,同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法(中国药典2010年版一部附录VIB)试验,分别吸取上述供试品溶液10 μ L、对照药材溶液5 μ L,点于硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水(15:40:22:10)在10℃以下放置的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以1%对二甲氨基苯甲醛的40%硫酸乙醇溶液,于60℃加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的斑点,而阴性样品在相应位置无斑点出现。色谱图见图1。

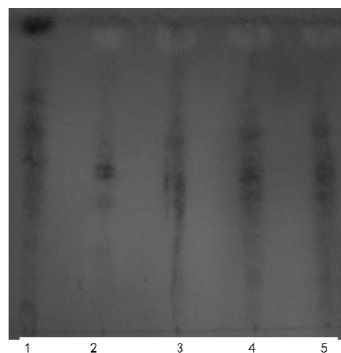


图1 柴胡薄层鉴别

1. 阴性对照(缺柴胡) 2. 柴胡对照药材 3~5. 三批样品

2.1.2 丹参薄层鉴别^[8-9] 取本品内容物10 g,研成细粉,加0.1 mol/L的盐酸溶液30 mL,超声提取20 min,滤过,滤液加乙醚提取2次,每次30 mL,合并乙醚提取液,蒸干,残渣加甲醇1 mL使溶解,作为供试品溶液。另按照处方组成及颗粒制备工艺制成缺丹参阴性样品,同法制成阴性供试品。取丹参素钠对照品,加甲醇制成每1 mL含0.5 mg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VIB)试验,吸取上述两种溶液各5~10 μ L,点于硅胶G薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯-甲酸(6:10:0.6)为展开剂,饱和15分钟后,展开,取出,晾干,置浓氨试液缸中15分钟后取出,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,显相同的颜色荧光斑点,而阴性样品在相应位置无斑点出现。色谱图见图2。

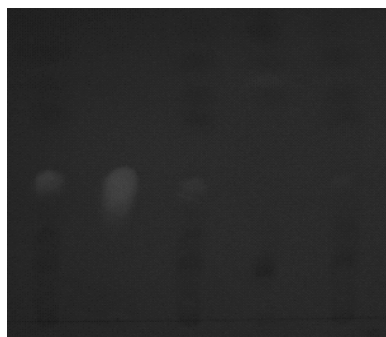


图2 丹参薄层鉴别

1,3,5. 三批样品 2. 丹参素钠对照品 4. 阴性对照(缺丹参)

2.1.3 五味子薄层鉴别^[10-11] 取本品内容物10 g,加三氯甲烷50 mL,超声提取30分钟,滤过,滤液浓缩至1 mL,作为供试品溶液。另按照处方组成及颗粒制备工艺制成缺五味子阴性样品,同法制成阴性供试品。取五味子对照药材2 g,同法制成对照药材溶液。照薄层色谱法(《中国药典》

2010 版一部附录 VIB) 试验,吸取上述两种溶液各 10 μ L,分别点于同一硅胶 GF254 薄层板上,以石油醚(30~60 $^{\circ}$ 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,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同的荧光主斑点,而阴性样品在相应位置无斑点出现。色谱图见图 3。

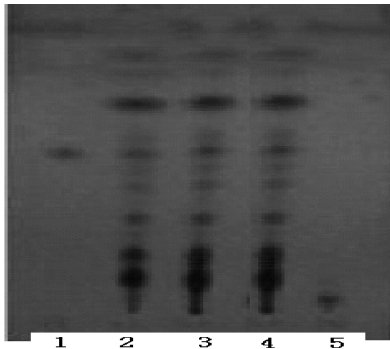


图 3 五味子薄层鉴别

1. 五味子醇甲对照品 2~4. 三批样品 5. 阴性对照(缺五味子)

2.2 含量测定^[12]

2.2.1 色谱条件与系统适用性 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钾溶液(14:86)为流动相;检测波长 230 nm。理论板数按芍药苷计算应不低于 2000。在此条件下,颗粒剂供试品被很好地分离,而缺白芍的阴性样品在对应芍药苷峰处没有吸收峰,色谱图见图 4~6。

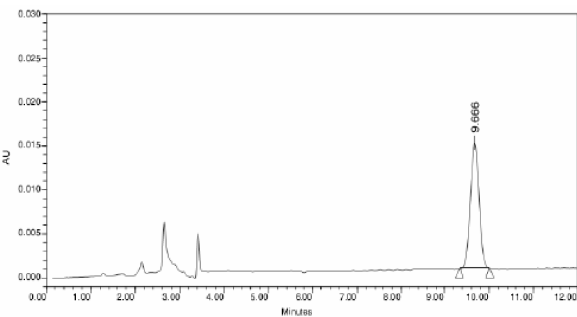


图 4 芍药苷色谱图

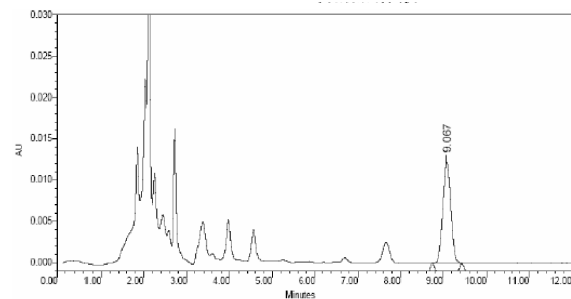


图 5 样品色谱图

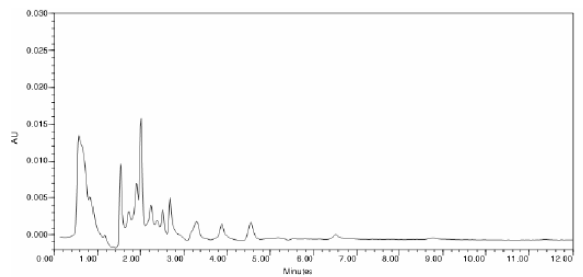


图 6 阴性样品色谱图

2.2.2 供试品溶液制备 取本品装量差异项下的柴苓降脂颗粒内容物,研细,取约 0.5 g,精密称定,将其置 50 mL 容量瓶中,加入稀乙醇适量,采用超声处理(功率 250 W,频率 33kHz)30 分钟,放至室温,加稀乙醇至刻度,摇匀,以 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

2.2.3 线性关系考察 分别精密吸取浓度为 0.0125 mg/mL、0.0199 mg/mL、0.0299 mg/mL、0.0498 mg/mL、0.1245 mg/mL、0.1992 mg/mL 的芍药苷对照品溶液各 10 μ L,按照上述色谱条件,注入高效液相色谱仪,记录色谱图,测定峰面积,结果见表 1,以峰面积(Y)对对照品含量(X)进行回归,得回归方程 $Y = 1.0 \times 10^7 X + 198555$ ($r = 0.9996$),并以峰面积(Y)对对照品含量(X)进行线性拟合,得一直线,见图 7。

表 1 芍药苷对照品线性关系考察结果

进样量(μ g)	峰面积值		平均值
0.1250	1263426	1310310	1286868
0.1990	2139894	2191907	2165901
0.2990	2845892	2853966	2849929
0.4980	5176422	5142088	5159255
1.2450	12396628	12350682	12373655
1.9920	19695026	18558514	19126770

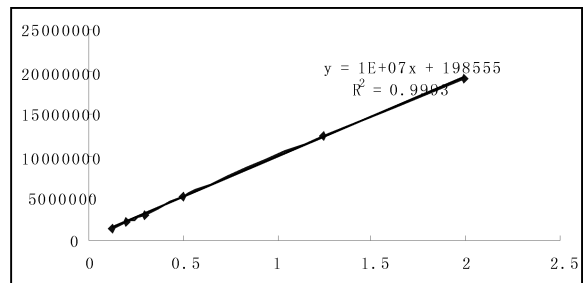


图 7 芍药苷的 HPLC 测定线性关系图

上述结果表明,内芍药苷峰在 0.125 μ g ~ 1.992 μ g 范围内,峰面积与进样量呈良好的线性关系,表明芍药苷在上述色谱条件下,在 0.125 ~

1.992 μg 范围内线性关系良好。

2.2.4 精密度试验 取样品(批号:100301),按照上述供试品制备方法制备样品,精密吸取供试品溶液 10 μL,重复测定 6 次,结果 6 次峰面积的 RSD 为 1.26 %,结果表明,拟定的方法精密度良好。

2.2.5 重复性试验 取柴苓降脂颗粒样品(批号:100301)5 份,按上述方法处理,测定每份样品的含量,结果 5 份样品含量的 RSD 为 1.96 %,平均含量为 7.45 mg/g,结果表明,拟定的方法重复性良好。

表 2 芍药苷回收率试验结果

编号	取样量(g)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得总量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	0.2001	1.4907	1.55	3.0176	98.51	98.22	1.14
2	0.2102	1.5660	1.59	3.0972	96.30		
3	0.2592	1.9310	2.11	4.0271	99.34		
4	0.2531	1.8856	2.06	3.9193	98.72		
5	0.3033	2.2596	2.62	4.8522	98.95		
6	0.3030	2.2574	2.58	4.7732	97.51		

2.2.8 样品测定 采用经验证的方法测定,对 3 批柴苓降脂颗粒中芍药苷的含量(批号:110301,110302,110303)进行测定,结果 3 批样品的含量分别为 74.13 mg/袋、72.43 mg/袋、72.72 mg/袋。综合考虑制备工艺及其他各种影响因素,本品含量暂定为每袋含芍药苷不得少于 50 mg。

3 讨论

在薄层鉴别中,柴胡、丹参和五味子方法重现性良好,因此收入质量标准草案中,其他几味药材的薄层鉴别方法的重现性有待改善,通过进一步研究再行确定鉴别方法。含量测定中,采用药典中白芍药材的含量测定的色谱条件进行实验,但结果分离效果较差。可能是由于复方中其他成分的干扰导致,而采用本文方法测定芍药苷含量结果较好^[10],分离效果理想。在供试品制备时,也考察了不同提取方法(超声和回流)对样品中芍药苷含量测定结果的影响,结果以超声提取法提取效果较佳,且方便快捷。结果表明,超声处理 30 min 可将样品中芍药苷提取完全。

参考文献

[1] 范志刚,贾高锁,梁培福,等. 中药治疗高脂血症合并脂肪肝临床研究[J]. 新中医,2011,43(5):50-51

[2] 范志刚,贾高锁,梁培福,等. 柴苓降脂方治疗脂肪肝合并高脂血症 110 例[J]. 中医杂志,2011,52(3):238

2.2.6 稳定性试验 取柴苓降脂颗粒(批号:100301),按上述供试品制备方法操作,分别于 0、2、4、8、12 小时测定峰面积,结果 5 次峰面积的 RSD 为 0.85 %,结果表明,供试品溶液在 12 小时内稳定性良好。

2.2.7 回收率试验 采取加样回收法,取一定量已知含量的柴苓降脂颗粒(批号:100301,C = 7.45 mg/g),按下表确定的量加适量对照品,按上述方法制备供试品溶液,测定含量,计算回收率,见表 2。测定结果表明,拟定的方法回收率良好。

-239

[3] 范志刚,贾高锁,梁培福,等. 柴苓降脂颗粒治疗脂肪肝合并高脂血症 104 例临床观察[J]. 中国医院药学杂志,2014,34(7):558-561.

[4] 范志刚,贾高锁,梁培福,等. 柴苓降脂颗粒与柴苓降脂汤治疗脂肪肝痰湿瘀阻证的临床疗效[J]. 江苏医药,2014,40(12):97-100.

[5] 张亚强,李林军. 天麻眩晕宁颗粒质量标准研究[J]. 陕西中医,2009,30(6):729-730.

[6] 赵志军,王连水. 小柴胡颗粒薄层鉴别及黄芩苷含量测定方法的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2005,11(3):57-58.

[7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京:中国医药科技出版社,2010:263.

[8] 图雅. 通脉灵胶囊的研究[D]. 济南:山东中医药大学,2002.

[9] 姜林,赵翡翠. 天香丹胶囊质量标准研究[J]. 中成药,2009,31(8):1214-1218.

[10] 杨春梅. 眠而安滴丸的制剂工艺及质量标准研究[D]. 北京:北京中医药大学,2004.

[11] 容蓉,陈明强,李洪晓,等. 复方天麻颗粒质量标准研究[J]. 时珍国医国药,2009,20(2):456-458.

[12] 吴艳丽,孙海涛. HPLC 法测定荡涤灵颗粒中芍药苷的含量[J]. 中国现代中药,2006,8(10):16-18.