

桂芎通络丸制剂质量标准研究

杨艳军^{1*}, 宋美佳¹, 丁晓爽²

(1. 淄博市中医医院, 淄博 255300; 2. 淄博市食品药品检验研究院, 淄博 255086)

摘要:目的 通过提高桂芎通络丸制剂的质量标准, 加强医院自制制剂桂芎通络丸的质量, 提高临床疗效。

方法 通过显微鉴别、薄层鉴别及高效液相色谱法对桂芎通络丸组成成分进行深入研究。**结果** 建立了桂芎通络丸处方中茯苓的显微鉴别, 以及山楂的薄层鉴别方法, 操作简便, 专属性强; 同时建立了测定处方中葛根中葛根素的含量测定方法, 在 0.2280~5.6994 μg 间呈现良好的线性关系, 回归方程为 $Y=4534598X+13008$, $r=0.9999$, 所建立的方法具有可行性。**结论** 本文建立的定性及定量方法, 不仅操作简便, 而且可行性高, 满足桂芎通络丸制剂质量控制需求, 可以更好地保障自制制剂的质量及疗效。

关键词: 桂芎通络丸; 显微薄层鉴别; 高效液相色谱法

0 引言

中医药是我国的重要财富, 中药制剂更是中医医院独具有的特色^[1-3]。随着生活压力的增大, 脑疾病逐渐年轻化。为更加携带方便, 易于口服, 淄博市中医医院老中医根据临床经验将桂芎通络丸制成了医院自制制剂。其是由川芎、茯苓、山楂、葛根、红花等成分组成制成的水丸, 临床用于益气活血, 豁痰通络, 开窍定痫, 脑梗塞, 脑出血及脑血栓后遗症, 且受到患者一致好评。但桂芎通络丸以前的质量标准过于简单化^[4-6], 只有川芎的薄层鉴别。桂芎通络丸处方中的茯苓具有利水渗湿, 健脾, 宁心安神功效^[7-8]; 山楂不但能软化血管, 还具有降低血压、血脂等作用^[9-11]; 葛根有改善脑的循环, 降低血压等多种药理作用^[12-15]。它们在桂芎通络丸中起着不可多得的疗效, 故而增加茯苓的显微鉴别, 山楂的薄层鉴别, 葛根的含量测定。本文通过增加桂芎通络丸的定性及定量分析, 旨在控制桂芎通络丸自制制剂的质量, 保障患者的用药安全, 并使其具有更好的疗效, 为中药制剂质量标准提高提供借鉴依据。

1 材料与方法

1.1 实验仪器与试剂

实验仪器见表1。

实验试剂: 乙酸乙酯、甲酸、甲苯、硫酸、乙醇为分析纯, 甲醇为色谱纯, 水为娃哈哈水。

1.2 方法

1.2.1 茯苓显微鉴别方法

将桂芎通络丸粉碎取适量粉末涂片, 放置于显微镜底下进行观察。

表1 实验仪器

仪器	型号	厂家
电子天平	MS205DU	梅特勒-托利多仪器公司
生物显微镜	BX53	奥林巴斯株式会社
薄层成像系统	GOOD-LOOK-1000	科哲生化科技有限公司
高效液相色谱仪	LC-20A	岛津有限公司
超声波清洗机	KS-500EI	宁波超声设备有限公司

1.2.2 山楂薄层鉴别制备方法

先将桂芎通络丸粉碎, 称 5 g, 放入锥形瓶中; 然后加入 30 mL 的乙酸乙酯溶液, 在超声清洗机中进行超声 20 min; 最后用定性滤纸进行滤过, 滤液蒸至约 2 mL, 以此作为桂芎通络丸溶液(供试组)。用上述相同的方法制备桂芎通络丸处方中不含山楂的剩余药材阴性溶液(阴性组)。用甲醇制成浓度为 1 mg/mL 的熊果酸对照溶液(对照组), 在硅胶 G 薄层板上用 5 μL 毛细管点样, 甲酸: 乙酸乙酯: 甲苯(0.5: 4: 20)为展开剂进行展开, 晾干, 用 10% 硫酸乙醇溶液作为显色剂, 在烘箱中进行加热直至斑点清晰, 放入薄层成像系统中紫外光灯(365 nm)下检测。

1.2.3 葛根素含量测定

(1) 试剂

对照品: 葛根素对照品(中检院提供, 批号 110752-201313)。

(2) 色谱条件

岛津 Inertsil ODS-SP C₁₈ 为色谱柱, 流动相为水-甲醇(75: 25)波长为 250 nm, 流速为 1.0 mL/min。使用两种色谱

* 通信作者: 杨艳军, 硕士, 主管药师, 研究方向为药物分析。E-mail: 912505176@qq.com

柱: 岛津 Inertsil ODS-SP C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm); 依利特 Hypersil ODS2 C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm)。

(3)含量溶液前处理

制备葛根素对照品溶液: 精密称取葛根素含量为 95.5% 的葛根素对照品(批号 110752-201313) 14.92 mg, 置于规格为 25 mL 的棕色容量瓶中, 用浓度为 30% 乙醇溶解定容, 混匀, 葛根素对照品浓度为 569.944 μg/mL, 作为总溶液。从总溶液中用 1 mL 的定量吸管吸取放于规格为 5 mL 的容量瓶中, 用浓度为 30% 乙醇溶解定容, 混匀, 得到葛根素浓度为 113.9888 μg/mL 的溶液。

桂芎通络丸溶液的制备: 将桂芎通络丸粉碎后, 精密称定重量为 1、2、3 g 的供试品, 放置圆底烧瓶中, 分别向圆底烧瓶中精密加入浓度为 30% 乙醇 50 mL, 在天平上称取圆底烧瓶的重量, 回流 30 min, 放到室温, 再次对圆底烧瓶进行称重, 用浓度为 30% 乙醇补足所损失的重量, 混匀, 用定量滤纸进行滤过, 取续滤液, 即得桂芎通络丸供试品溶液。将岛津色谱仪的进样量设置为 10 μL, 进行葛根素对照品及桂芎通络丸供试品中葛根素的含量测定, 计算葛根素的含量。

(4)供试液制备方法

通过取样量的考察结果(表 2), 将桂芎通络丸粉碎精密称定 2 g, 同样放置于圆底烧瓶中, 用定量吸管加入浓度为 30% 乙醇 50 mL, 将圆底烧瓶进行称重, 同样加热回流 30 min, 放置室温, 再次称圆底烧瓶的重量, 用浓度为 30% 乙醇补足所损失的重量, 混匀, 用定量滤纸进行滤过, 取续滤液, 即得桂芎通络丸供试品溶液。

(5)考察线性关系溶液的制备

制备葛根素对照品溶液: 精密称取葛根素含量为 95.5% 的葛根素对照品(批号 110752-201313) 14.92 mg, 置于规格为 25 mL 的棕色容量瓶中, 用浓度为 30% 乙醇溶解定容, 混匀, 葛根素对照品浓度为 569.944 μg/mL, 作为总溶液。

从总溶液中用 1、2 mL 的定量吸管, 以浓度为 30% 的乙醇为溶剂, 制备浓度为 22.7978、45.5955、56.9944、113.9888、227.9776 μg/mL 的葛根素对照品溶液。

(6)加样回收率试验前处理

供试品溶液的制备: 取已测知含量的本品 1 g(葛根素含量 3.9378 mg/g), 放到圆底烧瓶(规格 50 mL)中。向圆底烧瓶精密加入 7 mL 浓度为 569.944 μg/mL 的葛根素对照品溶液及浓度为 30% 乙醇得到容量总共 50 mL 的溶液; 天平上将圆底烧瓶称重, 水浴锅上回流 30 min, 放置室温, 用浓度为 30% 乙醇将损失的重量补足, 定量滤纸滤过, 取续滤液, 即得。平行制备 6 份。10 μL 作为进样量, 将对照溶液与供试溶液, 注入液相色谱仪, 测定, 计算。

(7)专属性试验前处理

称取葛根素对照品适量(批号 110752-201313)制成浓度为 114 μg/mL 的对照品溶液。取桂芎通络丸适量, 照(4)项下供试品溶液的制备方法制成供试品溶液。桂芎通络丸处方中不含葛根的剩余药材按供试品溶液的方法制备作为阴性对照组。

2 结果与分析

2.1 样品性状

2.1.1 标准规定

桂芎通络丸的颜色黄至棕褐色; 具有腥气的气味, 味道稍苦、酸。

2.1.2 测定结果

对制剂室提供的三批供试品进行检查, 性状方面符合标准。

2.2 样品成分鉴别

2.2.1 茯苓的显微鉴别

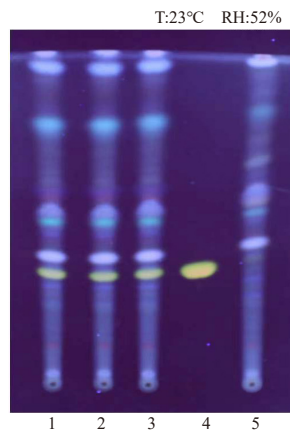
茯苓的显微特征具有不规则的颗粒状团块和无色的分枝状团块, 如图 1 所示。



图 1 茯苓团块

2.2.2 山楂的薄层色谱鉴别

从薄层图谱中(图 2)可以看出, 供试品色谱中, 在同一位置对照及供试品具有同样的荧光斑点, 且具有专属性。



注: 1——桂芎通络丸 1 批; 2——桂芎通络丸 2 批; 3——桂芎通络丸 3 批; 4——熊果酸对照品; 5——缺山楂阴性对照。

图 2 山楂的薄层色谱

2.3 葛根素的含量测定

2.3.1 耐用性试验

以 1.2.3(2) 色谱条件检验, 通过色谱柱的结果看(表 2), 对照品在两种不同的色谱柱上都具有较好的峰形。

表 2 色谱柱的考察结果

色谱柱品牌	保留时间	理论板数	对称因子
岛津 Inertsil ODS-SP	10.481	3887	1.171
依利特 Hypersil ODS2	5.177	3559	1.097

2.3.2 取样量的考察结果

表 3 中的结果显示, 无论任何取样量所得的葛根素的含量结果没有太大差别, 确定 2 g 为最终的取样量。

表 3 取样量考察结果

取样量(g)	含量(mg/g)
1.0426	3.8816
2.0017	3.9421
3.0016	3.8690

2.3.3 线性关系的考察

将岛津色谱仪的进样量设置为 10 μL, 对浓度为 22.7978、45.5955、56.9944、113.9888、227.9776、569.944 μg/mL 的葛根素对照品溶液进行含量测定峰面积值。横轴为葛根素对照品的进样量, 纵轴为葛根素的峰面积积分值, 通过软件线性回归, 得回归方程。

回归方程 $Y=4534598X+13008$, 相关系数 $r=0.9999$ (线性见图 3)。

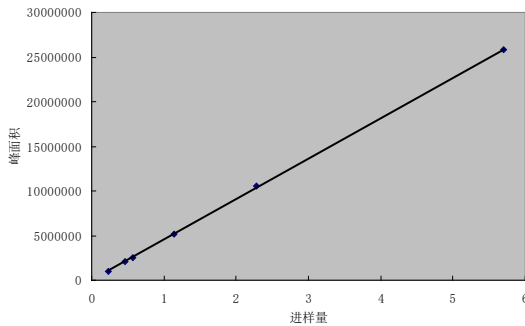


图 3 葛根素标准曲线

通过表 4 的结果显示, 在 0.2280~5.6994 μg 之间的葛根素进样量与其葛根素峰面积值具有良好的线性关系。

表 4 葛根素线性关系考察结果

进样量(μg)	0.2280	0.4560	0.5699	1.1399	2.2798	5.6994
峰面积	1019155	2073705	2564568	5119533	10538570	25799898

2.3.4 仪器精密度试验

将岛津色谱仪进样量设置为 10 μL, 对浓度为 113.9888 μg/mL 的葛根素对照品溶液进行精密度实验, 5 次连续进行实验, 测定葛根素的峰面积。表 5 中的结果显示仪器具有良好的精密度。

表 8 加样回收率考察结果

编号	取样量(g)	样品中含量(mg)	对照品加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	平均(%)	RSD(%)
1	1.0005	3.9398	3.9896	7.9915	101.56		
2	1.0007	3.9406	3.9896	7.9846	101.36		
3	1.0002	3.9386	3.9896	7.9832	101.38		
4	0.9999	3.9374	3.9896	7.9842	101.43	101.41	0.077
5	0.9998	3.9370	3.9896	7.9806	101.35		
6	0.9997	3.9366	3.9896	7.9812	101.38		

2.3.5 样品稳定性试验

依据 1.2.3(4)项下桂芎通络丸供试液的方法进行制备。1 h 为间隔时间, 10 μL 为进样量, 进行桂芎通络丸中葛根素的含量测定, 6 h 为总时间, 观察葛根素在桂芎通络丸处方中的是否具有稳定性。表 6 中的结果显示, 葛根素在处方中 6 h 内具有良好的稳定性。

表 5 精密度试验结果

编号	1	2	3	4	5
峰面积	5110324	5100740	5100974	5095906	5092684
RSD(%)	0.131				

表 6 稳定性试验结果

编号	1	2	3	4	5	6
峰面积	7096741	7141286	7149261	7144706	7154590	7151910
RSD(%)	0.303					

2.3.6 方法重复性考察

依据 1.2.3(4)项下桂芎通络丸供试液的方法进行制备。同样的方法制备 6 份。

将岛津色谱仪进样量设置为 10 μL, 对葛根素对照品溶液和 6 份桂芎通络丸供试液进行重复性考察, 计算 6 份供试液中葛根素的含量。表 7 中的结果显示选择的含量方法具有良好的重复性。

表 7 重复性考察结果

编号	取样量(g)	含量(mg/g)	平均含量(mg/g)	RSD(%)
1	2.0011	3.9303		
2	2.0012	3.9412		
3	2.0011	3.9441		
4	2.0009	3.9498	3.9378	0.24
5	2.0006	3.9373		
6	1.9997	3.9240		

2.3.7 加样回收率试验

表 8 试验结果表明, 测定方法的回收率良好。

2.3.8 专属性试验

将 10 μL 作为进样量, 对对照溶液、桂芎通络丸供试液及阴性溶液进行测定。从试验结果可以看出, 供试品(图 4)与葛根素对照品(图 5)在同样的保留时间位置上有相应的色谱峰, 且阴性对照组(图 6)不具有, 这表明此方法具有专属性。

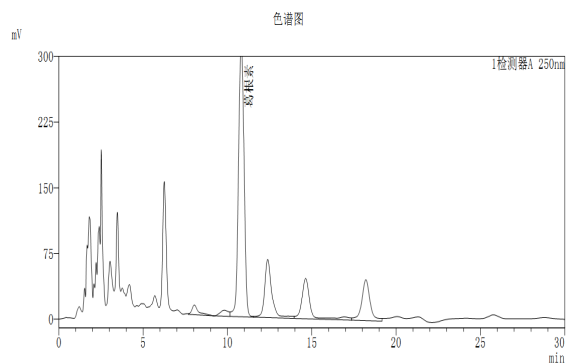


图4 供试品溶液的 HPLC 色谱图

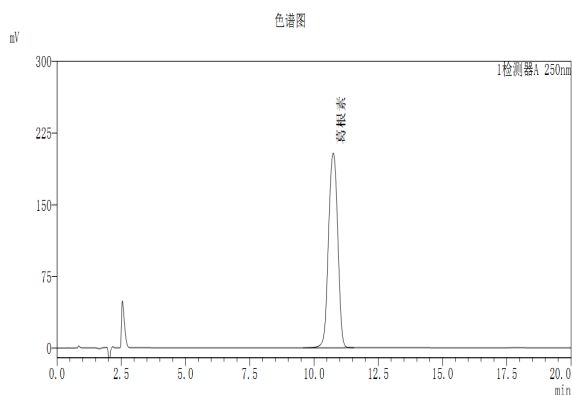


图5 葛根素对照品的 HPLC 色谱图

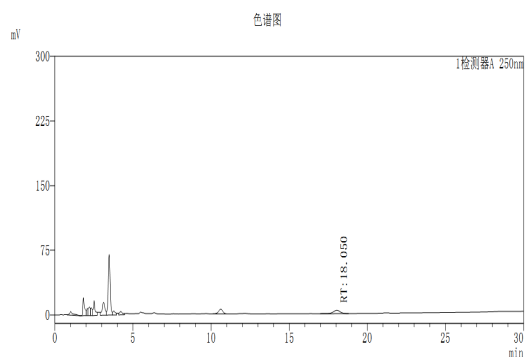


图6 阴性对照的 HPLC 色谱图

3 讨论与结论

本机构自制制剂桂芎通络丸具有良好的疗效, 且茯苓、葛根在处方中发挥的作用不容小觑。通过不断探索, 茯苓在处方中的显微特征, 山楂薄层鉴别, 葛根素含量测定具有专属性, 且阴性对照对所检测的药材并没有干扰, 处方中葛根素含量, 在取样量、线性关系、精密度、稳定性、重复性、回收率及专

属性等方面进行考察, 结果显示方法可行性较好, 可作为桂芎通络丸处方中葛根素的含量测定。通过增加对自制制剂桂芎通络丸的鉴别及含量测定, 能更好地保障桂芎通络丸制剂的质量, 保障患者的健康。采用的方法不仅操作方法简易, 而且重复性好, 为中药制剂标准的提高与借鉴提供参考。

参考文献

- [1] 徐小龙, 伏东宁, 常志惠, 等. 中药医院制剂质量标准提高的研究进展 [J]. 临床合理用药, 2024, 17(23): 173-176.
- [2] 徐兴燕, 许丽丽, 于雅萌, 等. 山东省医疗机构制剂质量标准现状及标准提高问题分析 [J]. 药学研究, 2021, 40(02): 69-72.
- [3] 刘莹. 浅谈院内自制制剂质量控制存在的问题及问题分析 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(79): 209-210.
- [4] 武晓玲, 余琳. 我院自制中药制剂的质量控制 [J]. 成都医药, 2003, (04): 224.
- [5] 冯志刚, 高云龙. 医院制剂质量标准的发展现状及对策 [J]. 黑龙江中医药, 2019, 48(01): 140-141.
- [6] 张庭燕, 孙迎辉. 医院自制制剂标准现状及对策 [J]. 华西药学杂志, 1996, (02): 118-120.
- [7] 杨振, 谷伟玲, 王玉, 等. 前列桂芎颗粒质量标准研究 [J]. 吉林中医药, 2024, 44(10): 1232-1237.
- [8] 程世云, 郝自新, 张祖亮, 等. 三鞭胶囊质量标准改进与提高研究 [J]. 中南药学, 2024, 22(10): 2731-2741.
- [9] 段秀俊, 刘培, 叶花, 等. 参茸宁心颗粒的薄层鉴别及含量测定研究 [J]. 中国新药杂志, 2021, 30(04): 362-368.
- [10] 林廷龙, 刘志海, 彭启丽, 等. 消炎止咳胶囊质量标准研究 [J]. 中国民族民间医药, 2024, 33(21): 32-36.
- [11] 伍柏坚, 符皖, 彭绍忠, 等. 人丹质量标准提高研究 [J]. 亚太传统医药, 2024, 20(07): 99-103.
- [12] 王丽婷, 郭双华, 邹慧岩, 等. 葛根种葛根素含量的测定 [J]. 广州化工, 2021, 49(22): 73-75.
- [13] 游贵君, 姜建伟, 陈碧. 高效液相色谱法测定中药制剂葛根汤颗粒中葛根素含量的研究 [J]. 中国医药科学, 2021, 11(17): 80-83.
- [14] 赵喜兰. HPLC测定野葛根中葛根素含量的研究 [J]. 安徽农业科学, 2010, 38(34): 19298, 19309.
- [15] 刘露, 刘飞翔, 丁斌, 等. 超高效液相色谱法测定葛根提取液中葛根素的含量 [J]. 安徽科技学院学报, 2020, 34(04): 43-47.