

腰舒胶囊质量标准研究*

郭亮¹ 郭剑华¹ 刘渝松¹ 马善治¹ 林於² 刘新² 彭文忠¹ 王健¹ 廖兴隆¹ 胡晓¹

(1. 重庆市中医骨科医院, 重庆 400010; 2. 重庆医科大学, 重庆 400016)

摘要:目的 建立腰舒胶囊的定性鉴别和含量测定方法。方法 用薄层色谱(TLC)法定性鉴别制剂中川牛膝、当归、狗脊、党参、槲寄生、丹参。用高效液相色谱(HPLC)法测定制剂中丹参酮Ⅱ_A的含量,以氨基键合硅胶为填充剂,以乙腈:水(8:2)为流动相,检测波长为250 nm。结果 薄层色谱斑点清晰,分离度好,阴性对照无干扰;丹参酮Ⅱ_A进样量在1.0~10.0 μg/mL范围内与其峰面积积分值线性关系良好,平均回收率为92.80%。结论 所建立的定性、定量分析方法可用于颈舒胶囊的质量控制。

关键词:腰舒胶囊;质量标准;丹参酮Ⅱ_A

中图分类号: R284.1; R286.0

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2013)20-0039-03

腰舒胶囊由丹参、党参、当归、川牛膝、狗脊、槲寄生、制川乌、全蝎、熟地黄9味药材组方,为中药复方医院制剂,具补肝肾、益气血、祛风湿、通经络之功效,临床用于腰椎间盘突出症祛风通络、舒筋活血,疗效显著。采用薄层色谱(TLC)法对制剂中的川牛膝、当归、狗脊、党参、槲寄生、丹参进行定性鉴别,采用高效液相色谱(HPLC)法测定制剂中有效成分丹参酮Ⅱ_A的含量,旨在为该制剂的质量控制和评价奠定基础。现报道如下。

1 仪器与试药

SY-810型高效液相色谱仪(瑞利分析仪器公司);AG135型1/10万天平(Mettler Toledo公司)。腰舒胶囊及各阴性样品(重庆市中医骨科医院制备);川牛膝对照药材(批号为121066-200203)、当归对照药材(批号为120927-200512)、狗脊对照药材(批号为121071-200502)、党参对照药材(批号为121057-200303)、槲寄生对照药材(批号为121075-200402)、丹参酮Ⅱ_A

*重庆市科委项目“重庆创新药物孵化基地”子课题,项目编号: cstc2011ggC0030-35。

高血压、心动过缓,而P组由于丙泊酚对循环的抑制而发生了低血压、心动过缓。维持剂量阶段因右美托咪啶的抗交感作用,有患者出现了血压、心率降低,但均能维持在可接受的安全范围内^[13]。另外由于右美托咪啶的去交感作用,降低了气管插管所带来的不良刺激,使得血流动力学更稳定,心血管不良事件发生率明显低于丙泊酚。

谵妄在ICU发生率很高,可导致ICU住院时间延长、提高死亡风险。在ICU谵妄发生的危险因素中最突出的就是镇静药物的使用。两组谵妄发生率无显著差异,这与Richard等^[14]的研究结果不一致,可能与本研究对象均为术后患者、机械通气和镇静时间短(<24 h)有关。

综上所述,右美托咪啶用于ICU患者镇静,效果好,苏醒时间短,可明显减少镇痛药物用量,缩短拔管时间,且血流动力学稳定、不良反应少、安全性高,是较理想的ICU镇静剂。

作者简介:肖云(1979-),男,硕士研究生,主治医师,主要从事重症医学工作,(电子信箱)dmn0406@163.com;王永顺,主任医师,主要从事重症医学工作,本文通讯作者,(电子信箱)wangyongshun1228@sina.com。

参考文献:

[1] Ramsay MA, Savege TM, Simpson BR, et al. Controlled sedation with alphaxalone-alphadolone[J]. Br Med J, 1974, 2(5 920): 656-659.
[2] Meehan DA, McRae ME, Rourke DA, et al. Analgesia administration, pain intensity and patient satisfaction in cardiac surgical patients[J]. Am J Crit Care, 1995, 4(6): 435-442.
[3] 中华医学会重症医学分会. 机械通气临床应用指南(2006)[J]. 中国危重病急救医学, 2007, 19(2): 65-72.
[4] Ely EW, Margolin R, Francis J, et al. Evaluation of delirium in critically ill patients: validation of the Confusion Assessment Method for the Intensive Care Unit (CAM-ICU)[J]. Crit Care Med, 2001, 29(7): 1370-1379.

[5] Saekey PV, Radell PJ, Granath F, et al. Bispectral index as a Predictor of sedation depth During isoflurane or midazolam sedation in ICU Patients[J]. Anaesth Intensive Care, 2007, 35(3): 348-356.
[6] Ard J, Doyle W, Bekker A. Awake craniotomy with dexmedetomidine in pediatric patients[J]. Neurosurg Anesthesiol, 2003, 15(3): 263-266.
[7] Coull JT, Jones M, Egan T, et al. Attentional effects of noradrenaline vary with arousal level: selective activation of thalamic pulvinar in humans[J]. Neuro Image, 2004, 22(1): 315-322.
[8] Herr DL, Sum-Ping ST, England M. ICU sedation after coronary artery bypass graft surgery: dexmedetomidine-based versus propofol for sedation regimens[J]. Cardiothorac Vasc Anesth, 2003, 17(5): 576-584.
[9] Jaakola ML, Salonen M, Lehtinen R, et al. The analgesic action of Dexmedetomidine: a novel alpha 2-drenoceptor agonist in health volunteers[J]. Pain, 1991, 46(3): 281-285.
[10] Nelson LE, Lu J, Guo T, et al. The alpha 2-adrenoceptor agonist dexmedetomidine converges on an endogenous sleep-promoting pathway to exert its sedative effects[J]. Anesthesiology, 2003, 98(2): 428-436.
[11] Martin E, Ramsay G, Mantz J, et al. The role of the alpha-2-adrenoceptor agonist Dexmedetomidine in postsurgical sedation in the intensive care unit [J]. Intensive Care Med, 2003, 18(1): 29-41.
[12] Gerlach AT, Dasta JF, Armen S, et al. Titration protocol reduces hypotension during dexmedetomidine infusion in critically ill surgical patients[J]. Crit Care Med, 2006, 34(9): 148.
[13] Ely EW, Shintani A, Truman B, et al. Delirium as a predictor of mortality in mechanically ventilated patients in the intensive care unit [J]. JAMA, 2004, 291(14): 1753-1762.
[14] Richard R, Riker, Yahya Shehabi, Paula M, et al. Dexmedetomidine vs Midazolam for Sedation of Critically Ill patients: A Randomized trial [J]. JAMA, 2009, 301(5): 489-499.

(收稿日期: 2013-05-21)

对照品(批号为20041207)均由中国药品生物制品检定所提供;乙腈为色谱纯,水为重蒸水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

川牛膝:取胶囊内容物20g,加乙醇100mL,加热回流1h,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加水50mL使溶解,用乙酸乙酯30mL萃取,弃去乙酸乙酯液,水液继续用水饱和的正丁醇30mL萃取,分取正丁醇液,蒸干,残渣加乙醇2mL使溶解,作为供试品溶液。取不含川牛膝的阴性样品,同法制备阴性对照品溶液。取川牛膝对照药材2g,加乙醇50mL,加热回流1h,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加乙醇2mL使溶解,作为对照药材溶液。照薄层色谱法试验,吸取供试品溶液、阴性对照品溶液、对照药材溶液各5~10 μ L,分别点于同一以0.3%羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶G薄层板上,以石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)-乙酸乙酯-甲醇-浓氨(12:6:3:0.5)为展开剂,浓氨水预平衡20min,展开至12~14cm,取出,晾干,喷以香草醛硫酸试液,在105 $^{\circ}$ C加热至斑点清晰。供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点,置紫外光灯(365nm)下检视显相同颜色的荧光斑点,阴性对照品溶液色谱则无此斑点(图A1-A2)。

当归:取胶囊内容物20g,加乙醇100mL,加热回流1h,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加水50mL使分散,用石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)50mL萃取,分取石油醚液,蒸干,残渣加乙醇2mL使溶解,作为供试品溶液。取不含当归的阴性样品,同法制备阴性对照品溶液。取当归对照药材2g,加乙醇50mL,加热回流1h,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加乙醇2mL使溶解,作为对照药材溶液。照薄层色谱法试验,吸取供试品溶液及阴性对照品溶液各10~15 μ L、对照药材溶液5~10 μ L,分别点于同一以0.3%羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶G薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯(10:1)为展开剂,展开至10~12cm,取出,晾干,再喷以香草醛硫酸试液,在105 $^{\circ}$ C加热至斑点清晰。供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点,置紫外光灯(365nm)下检视显相同颜色的荧光斑点,阴性对照品溶液色谱则无此斑点(图B1-B2)。

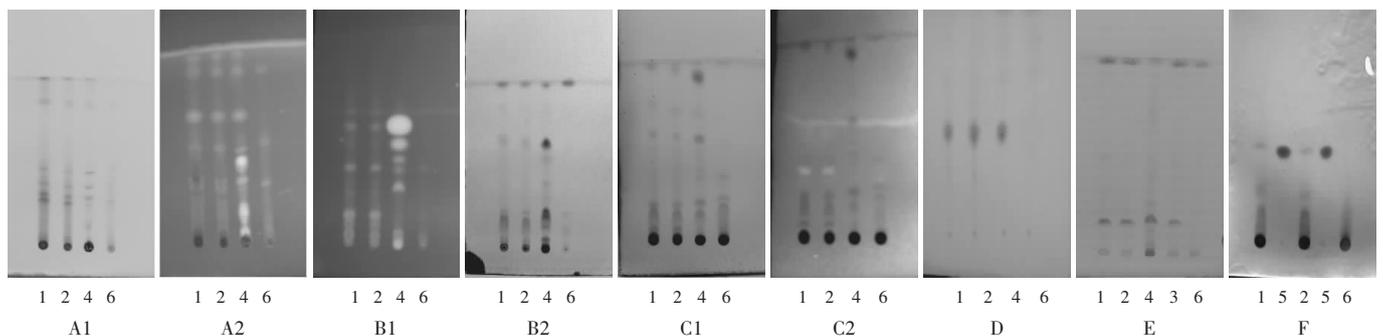
狗脊^[1]:取胶囊内容物20g,加乙醇100mL,加热回流1h,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加水50mL使分散,用石油醚30mL萃取,弃去石油醚液,分取水液,加乙酸乙酯50mL萃取,分取乙酸乙酯液,蒸干,残渣加乙醇2mL使溶解,作为供试品溶液。取不含狗脊的阴性样品,同法制备阴性对照品溶液。取狗脊对照药材2g,加乙醇50mL,加热回流1h,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加乙醇2mL使溶解,作为对照药材溶液。照薄层色谱法^[1]试验,吸取供试

品溶液、阴性对照品溶液、对照药材溶液各10~15 μ L,分别点于同一以0.3%羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶G薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯(20:2)为展开剂,展开至10~12cm,取出,晾干,喷以香草醛硫酸试液,在105 $^{\circ}$ C加热至斑点清晰。供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点,置紫外光灯(365nm)下检视显相同颜色的荧光斑点,阴性对照品溶液色谱则无此斑点(图C1-C2)。

党参:取胶囊内容物6g,加正丁醇40mL,超声处理30min,滤过,滤液水浴浓缩至约1mL,作为供试品溶液。取不含党参的阴性样品,同法制成阴性对照品溶液。另取党参对照药材2g,加正丁醇20mL,超声处理30min,滤过,滤液水浴浓缩至1mL,作为对照药材溶液。照薄层色谱法^[1]试验,吸取供试品溶液及阴性对照品溶液10~20 μ L、对照药材溶液10~15 μ L,分别点于同一以0.3%羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶G薄层板上,以正丁醇-乙醇-水(15:3:2)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。供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照品溶液色谱则无此斑点(图D)。

槲寄生:取胶囊内容物5g,加乙醇50mL,加热回流1h,滤过,取滤液,加盐酸3mL,加热回流1h后浓缩至约10mL,加水20mL,用石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)萃取3次,每次20mL,石油醚萃取液蒸干,残渣加乙醇1mL使溶解,作为供试品溶液。取不含槲寄生的阴性样品,同法制备阴性对照品溶液。取槲寄生对照药材1.5g,加乙醇30mL,加热回流1h,滤过,滤液蒸干,残渣加乙醇1mL使溶解,作为对照药材溶液。照薄层色谱法^[1]试验,吸取供试品溶液及阴性对照品溶液各10 μ L、对照药材溶液5 μ L,分别点于同一以0.3%羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶G薄层板上,以氯仿-甲醇(40:1)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以5%磷钼酸乙醇溶液,在110 $^{\circ}$ C加热至斑点显色清晰。供试品溶液色谱中,在与对照药材溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照品溶液色谱则无此斑点(图E)。

丹参^[2]:取胶囊内容物6g,加乙醇30mL,加热回流1h,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加水20mL使分散,用乙醚30mL萃取,分取乙醚层,低温蒸干,残渣加乙醇2mL使溶解,作为供试品溶液。取不含丹参的阴性样品,同法制备阴性对照品溶液。取丹参对照品II_a对照品,加乙酸乙酯制成每1mL含2mg的溶液,作为对照品溶液。照薄层色谱法^[1]试验,吸取供试品溶液及阴性对照品溶液各10~15 μ L、对照品溶液10 μ L,分别点于同一以0.3%羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶G薄层板上,以苯-乙酸乙酯(19:1)为展



1-3. 供试品溶液 4. 对照药材溶液 5. 对照品溶液 6. 阴性对照品溶液

A1. 川牛膝 A2. 川牛膝(紫外光灯) B1. 当归 B2. 当归(紫外光灯) C1. 狗脊 C2. 狗脊(紫外光灯) D. 党参 E. 槲寄生 F. 丹参

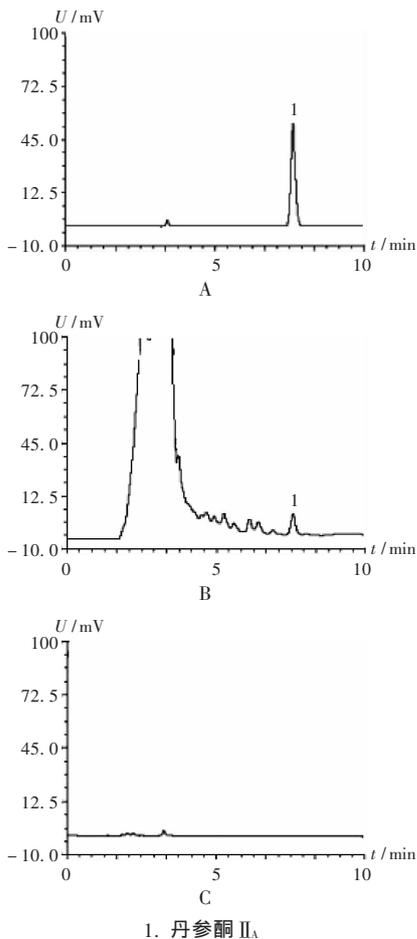
图1 薄层色谱鉴别图

开剂,展开,取出,晾干。供试品溶液色谱中,在与对照品溶液色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照品溶液则无此斑点(图F)。

2.2 丹参酮II_A含量测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱: Amethyst C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(9:1); 流速: 1 mL/min; 检测波长: 270 nm; 进样量: 20 μL。该色谱条件下,理论板数按丹参酮II_A峰计算应不低于8000,葛根素峰分离良好,阴性无干扰(见图2)。



1. 丹参酮II_A
A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液
图2 高效液相色谱图

2.2.2 溶液制备

取胶囊内容物7g,碾细,精密称定,用乙醇50mL回流提取30min,滤过,残渣再用50mL乙醇超声处理5min,滤过,合并滤液,置蒸发皿中蒸干,残渣加水30mL使分散,转入分液漏斗中,蒸发皿用30mL乙醚反复洗涤,洗涤液并入分液漏斗中,再用60mL乙醚分两次萃取,合并乙醚萃取液,蒸干,残渣用甲醇分次使溶解并转移至25mL容量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。精密称取丹参酮II_A对照品适量,用甲醇制成每1mL含4μg的溶液,即得对照品溶液。

2.2.3 方法学考察

线性关系考察:精密称取丹参酮II_A对照品适量,用甲醇制成每1mL含1.0,3.0,4.0,5.0,10.0μg/mL的系列对照品溶液,在选定的色谱条件下分别进样20μL,记录色谱图。以丹参酮II_A吸收峰面积积分值为纵坐标Y,进样质量浓度X为横坐标绘制标准曲线,线性回归方程为 $Y = 127\,210.6X$, $r = 0.9996$ 结果表

明,丹参酮II_A质量浓度在1.0~10.0μg/mL范围内与其峰面积积分值线性关系良好。

精密度试验:吸取同一丹参酮II_A对照品溶液,重复进样5次,记录丹参酮II_A的峰面积积分值。结果的RSD为0.27%(n=5),表明仪器的精密度良好。

稳定性试验:取同一刚制备的供试品溶液,分别于0,4,8,12,24h在选定的色谱条件下进样20μL,记录丹参酮II_A的峰面积积分值。结果的RSD为1.3%(n=5),表明供试品溶液在24h内保持稳定。

重复性试验:取同一批样品,精密称定,依法制备5份供试品溶液,在选定的色谱条件下分别进样20μL,记录丹参酮II_A的峰面积积分值。结果的RSD为1.0%(n=5),表明方法重现性良好。

加样回收试验:取已知丹参酮II_A含量的样品6份,精密称定,分别精密加入丹参酮II_A对照品的甲醇稀释液,依法制备6份供试品溶液并测定,记录丹参酮II_A的峰面积积分值。结果平均回收率为92.8%。

2.3 样品含量测定^[3]

取中试样品3批,依法测定丹参酮II_A含量。结果见表1。

表1 中试样品含量测定结果

批号	取样量(g)	含量(mg/g)	平均含量(mg/g)
20120401	6.251	0.39	
20120402	6.210	0.39	0.39
20120403	6.332	0.39	

3 讨论

本制剂当中川牛膝、当归、狗脊、党参、槲寄生、丹参的薄层色谱鉴别方法学考察表明,薄层色谱斑点分离良好,斑点圆整清晰,阴性无干扰,同时试验样品均能检出相应色谱斑点,表明选定的方法具有专属性和重现性,可作为腰舒胶囊制剂质量控制的定性检测方法。

测定丹参酮II_A含量采用的是高效液相色谱法。供试品甲醇提取后离心取上清液,再用石油醚萃取,溶液澄清,且用此方法制备供试品溶液简单、快速,测定结果准确,供试品溶液中目标峰与相邻色谱峰分离度大于1.5,因此,该方法可用于本制剂质量控制的含量测定方法。

本试验中建立了鉴别制剂中川牛膝、当归、狗脊、党参、槲寄生、丹参的薄层色谱鉴别方法,能鉴别出其特征性斑点;建立了测定丹参酮II_A含量的高效液相色谱法,精密度、稳定性、重现性均符合要求。因此,上述两种方法为制订腰舒胶囊的质量标准提供了理论依据。

作者简介:郭亮,男,副主任中医师,主要从事筋伤疾病的临床治疗及研究,(电话)023-63930047(电子信箱)2808632309@qq.com。

参考文献:

- [1] 步显坤,许 枏,袁 野,等. 烫狗脊的质量标准研究[J]. 中成药, 2010, 32(7): 1266-1268.
- [2] 周 玲,李桂芳. 宁神通痹胶囊丹参和川芎的薄层色谱鉴别[J]. 中华医药杂志, 2009, 9(8): 56-58.
- [3] 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: 70.

(收稿日期: 2013-06-18; 修回日期: 2013-07-05)