Tradit Pat Med (中成药), 1995, 17(2): 16-17.

[4] Ren S H. Determination of berberine in Zanglian Pill by RP-HPLC [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1994, 16(4): 18.

[5] Zhou Z F, Lin Z H, Zhuang X P. Study on the quality control of Antidotic and Antipyretic Oral Liquid [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1997, 19(1): 1-13.

天然澄清剂在乐脉口服液澄清工艺中的应用

龚 涛[1],郭 涛[2],陶云平[1*],刘三康[1],向 军[1**]

(1. 四川大学华西药学院,四川 成都 610041; 2. 梓潼宫药业有限公司,四川 内江 641006)

乐脉口服液处方来源于《中华人民共和国药典》2000年版一部的乐脉颗粒,由丹参、赤芍等 7味中药组成,具有活血行气、化瘀通脉之功效,主治冠心病、心绞痛等症[1]。口服液制备常用水提醇沉法,需耗费大量的乙醇,成本较高,且中药复方的多种有效成分性质各异,醇沉常常损失较多,影响制剂的临床疗效。为了在纯化过程中尽量保留浸出液中的有效成分,本实验采用新型天然澄清剂代替醇沉处理乐脉口服液。通过对有效成分的 TLC检识和芍药苷、丹参素的含量测定,证明天然澄清剂能较好地除去杂质,达到澄清药液的目的。

1 材料与仪器

丹参为唇形科植物 *Salvia miltiorrhiza* Bge.的干燥根及根茎,赤芍为毛茛科植物川赤芍 *Paeonia veitchii* Lynch的干燥根,川芎为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort.的干燥根茎,红花为菊科植物红花 *Carthamus tinctorius* L.的干燥花,香附为莎草科植物莎草 *Cyperus rotundus* L.的干燥根茎,木香为菊科植物 *Aucklandia lappa* Decne.的干燥根,山楂为蔷薇科植物山里红 *Crataegus pinnatifida* Bge. var. *major* N. E. Br.的干燥成熟果实。均购自成都市中药材公司,经华西医科大学制药厂质检科傅文峰鉴定,ZTCH- 1天然澄清剂II 及预处理剂 B(天津正天成澄清技术有限公司)。

LC-6A高效液相色谱仪,SPD-6AV 紫外检测器(日本岛津),C-R4A数据处理机;芍药苷、原儿茶醛(中国药品生物制品检定所),丹参素钠(上海医科大学药学院,纯度为 98% 以上);所用试剂均为分析纯;硅胶 G为青岛海洋化工厂出品。

2 方法和结果

2.1 原溶液的制备:按药典处方称取 7味药材共 1 kg,加水煎煮 3次,每次 1 h,滤过,合并滤液,减压浓缩至 2 000 mL,备用。

2.2 天然澄清剂溶液的配制:按产品使用说明,将 ZTCH- 1天然澄清剂II A组分,加水配成 1% 溶液;B组分加 1% 醋酸溶液配成 1% 溶液,备用。

2.3 纯化方法

2.3.1 醇沉法:取原溶液,搅拌下加乙醇至含醇量达 50%,静置过夜,滤过,减压回收乙醇,浓缩液加水至处理前体积。

2.3.2 澄清剂法:取原溶液,按 0.4% 加入预处理剂 B,50℃保温 4 h后,煮沸 15 min灭酶,降温至 80℃左右,按 8% 加入 ZTCH- 1天然澄清剂 B组份,混匀,再降温至 60℃左右,按 4% 加入 A组份,混匀,静置过夜,滤过。滤液调整至处理前体积。

2.4 定性比较

2.4.1 点样液的制备:分别取上述两种方法制备的口服液各 30 mL,置分液漏斗中,加乙醚 40 mL,振摇 3 min,静置分层,取乙醚层,用水 40 mL分两次洗涤,取乙醚层加无水硫酸钠约 2 g,振摇,滤过,挥干,残渣用乙醚 1 mL溶解,作为供试品溶液。另取原儿茶醛对照品,加乙醇制成 0.5 mg/mL的溶液,作为对照品溶液;取川芎对照药材粉末 1 g,加乙醚 30 mL,超声提取 5 min,滤过,滤液挥干,残渣加乙醚 1 mL溶解,作为川芎对照药材溶液;取木香对照药材粉末 1 g,加乙醚 10 mL,超声提取 5 min,滤过,滤液作为木香对照药材溶液。

2.4.2 丹参的定性比较:吸取上述两种供试品和原儿茶醛溶液各 5μL,分别点于同一用 0.5% CMC-Na制成的硅胶 G板上,以氯仿-丙酮-甲酸(8∶1∶1)为展开剂,展开,取出,晾干,先置氨气中熏 5 min,再置碘蒸气中放置到薄层板变成黄色。色谱图

* 收稿日期: 2002-11-20

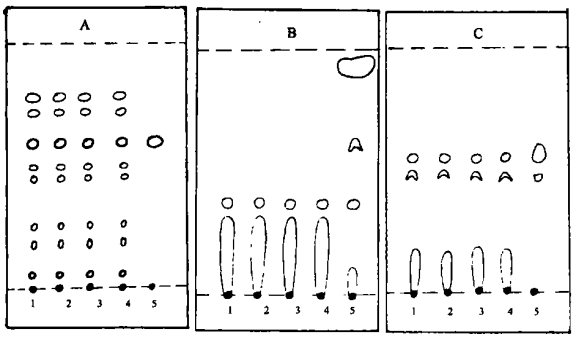
作者简介: 龚 涛,男,工程师,现为四川大学华西药学院在读博士生,主要从事药物新制剂的研究。

* 现在科创制药公司工作 ** 现在华西医科大学制药厂工作

见图 1-A

2.4.3 川芎的定性比较: 吸取上述两种供试品和川芎对照药材溶液各 5μL,分别点于同一用 0.5% CMC-Na制成的硅胶 G板上,以正己烷-乙酸乙酯 (7∶3)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯 (365 nm)下检视。色谱图见图 1-B。

2.4.4 木香的定性比较: 吸取上述两种供试品和木香对照药材溶液各 5μL,分别点于同一用 0.5% CMC-Na制成的硅胶 G板上,以环己烷-丙酮 (10∶3)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 5%香草醛硫酸溶液,热风吹至斑点显色清晰。色谱图见图 1-C。



1, 2-澄清剂处理样品	1, 2-澄清剂处理样品	1, 2-澄清剂处理样品
3, 4-醇沉处理样品	3, 4-醇沉处理样品	3, 4-醇沉处理样品
5-原儿茶醛对照品	5-川芎对照药材	5-木香对照药材
1, 2-samples purified with ZCTH-1	1, 2-samples purified with ZCTH-1	1, 2-samples purified with ZCTH-1
3, 4-samples purified with alcohol sediment	3, 4-samples purified with alcohol sediment	3, 4-samples purified with alcohol sediment
5-protocatechulic aldehyde	5-*Rhizoma Chuanxiong*	5-*Radix Aucklandlae*

图 1 丹参 (A)、川芎 (B)和木香 (C)的 TLC图谱

Fig. 1 TLC chromatograms of *Radix Salvia Miltiorrhizae* (A), *Rhizoma Chuanxiong* (B) and *Radix Aucklandiae* (C)

2.5 芍药苷的含量测定: 精密量取精制处理前后溶液各 2 mL,置 100 mL量瓶中,稀释至刻度,作为供试品溶液。按《中华人民共和国药典》2000年版一部中乐脉颗粒项下的含量测定方法测定。

2.6 丹参素的含量测定

2.6.1 对照品溶液的制备: 精密称取 80℃减压干燥至恒重的丹参素钠对照品约 6 mg,置 50 mL容量瓶中,用 5%甲醇溶解,稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。

2.6.2 供试品溶液的制备: 精密吸取乐脉口服液 3.00 mL,置容量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

2.6.3 色谱条件: 色谱柱: CLC-ODS柱 (150 mm×6.0 mm, 5μm); 流动相: 甲醇-0.2 mol/L NH_4Ac (硫酸调节 pH 2.20) (12∶88); 检测波长: 280 nm; 流速: 1 mL/min。

2.6.4 线性关系考察: 按上述方法配制不同浓度的对照品溶液,并测定色谱峰面积。以峰面积积分值为纵坐标,对照品质量为横坐标,进行回归处理,计算得回归方程 $Y = 2.9 + 1.70 \times 10^5 X$, $r = 0.9999$。丹参素钠的进样量在 0.62~4.94μg线性关系良好。

2.6.5 精密度试验: 精密吸取供试品溶液 10μL,连续重复进样 5次,测得丹参素钠峰面积积分值的 *RSD*为 0.38%。

2.6.6 回收率试验: 精密吸取一定量的供试品,加入丹参素钠适量 (3种不同水平,各 3份),同上述方法处理后测定其含量,并分别计算回收率,结果平均回收率为 101.2%, *RSD*= 1.62% (n= 9)。

2.6.7 测定: 分别精密吸取对照品溶液与各供试品溶液 10μL,进样,测定峰面积,按外标一点法计算。

2.7 澄清工艺对芍药苷、丹参素含量的影响: 分别取原溶液和纯化处理溶液,测定指标含量,结果见表 1。

表 1 澄清前后乐脉口服液中成分的含量变化 (n= 5)

Table 1 Change of some components in Lemai Oral Solution by pre- and post-purification (n= 5)

样 品	芍药苷含量 /(mg·mL⁻¹)	芍药苷保留率 /%	丹参素含量 /(mg·mL⁻¹)	丹参素保留率 /%	固体物含量 /(mg·mL⁻¹)	固体物保留率 /%
处理前	25.9	100	0.90	100	314	100
澄清剂处理	24.2	93.6	0.87	96.7	241	76.7
醇沉处理	20.4	78.8	0.72	80.0	198	63.1

3 讨论

3.1 ZTCH-1天然澄清剂的作用机制是利用电荷和大分子的"架桥"作用,去除溶液中的不溶性颗粒和鞣质、蛋白质、树脂等杂质,得到澄清的溶液。乐脉口服液经澄清剂处理后,芍药苷、丹参素的保留率分别为 93.6%和 96.7%,表明澄清剂对这些成分基本上不吸附,而醇沉后芍药苷、丹参素的保留率分别为 78.8%和 80.0%。从薄层定性检查看,澄清剂处理和醇沉处理两者样品无明显差异。由此可见,澄清剂法较醇沉法能更有效地保留乐脉水提液中的活性成分。

3.2 本实验研究中, ZTCH-1天然澄清剂在稀溶液中的澄清效果较好,但对于浓溶液,如果不与预处理剂配合使用,则很难达到理想的澄清效果。这与文献报道相符[2]。本实验即使先使用预处理剂,澄清剂的用量仍较大。其他如 101果汁澄清剂也存在同样的缺点。

References

[1] *Ch P* (中国药典) [S]. 2000 ed. Vol Ⅰ.
[2] Xie Y S, Li H B, Song B S. Application research of natural clarifying agents on decoctions of complex prescription of TCM [J]. *J Pharm Pract* (药学实践杂志), 1998, 16(2): 87-88.

淫羊藿提取物中淫羊藿苷含量的 HPLC测定

王旭东[1],姚 晨[2],鲁方平[1]*

(1. 成都康弘制药有限公司,四川 成都 610041; 2. 石家庄科迪药业有限公司,河北 石家庄 050091)

淫羊藿药材为《中华人民共和国药典》2000年版收载品种,淫羊藿苷为其中有效成分。为了控制其质量,本实验建立了 HPLC法测定淫羊藿提取物中淫羊藿苷的含量,并在方法学考察过程中,对文献[1-6]报道的多种色谱条件进行了比较,建立了合适的测定方法。

1 仪器与试剂

Waters (2690-996)高效液相色谱仪, Sartorius BP211D型电子天平, CQ-250超声波清洗仪。淫羊藿提取物 (浸膏粉)为本公司自制。淫羊藿苷对照品 (中国药品生物制品检定所提供,供含量测定用,批号: 0737-200111)。乙腈为色谱纯,甲醇为分析纯,水为重蒸水。

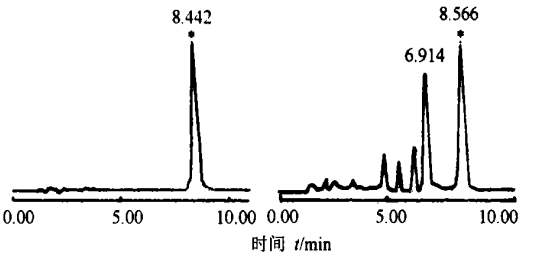
2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Inertsil ODS-3 C_{18}柱 (150 mm× 4.6 mm, 5μm);流动相: 乙腈-水 (28∶72);流速: 1 mL/min;检测波长: 270 nm;柱温: 30℃;进样量: 10μL。理论塔板数以淫羊藿苷计算应不低于2 000。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取淫羊藿苷对照品 20.94 mg,用甲醇溶解定容至 100 mL,作为贮备液 (209.4μg/mL)。分别精密吸取此贮备液,加甲醇稀释配制成浓度为 8.376, 16.75, 41.88, 83.76, 167.5, 209.4μg/mL的溶液。

2.3 供试品溶液的制备: 取本品 50 mg,精密称定,置 50 mL量瓶中,加甲醇 30 mL,超声处理 10 min,放冷,再加甲醇至刻度,摇匀,用微孔滤膜 (0.45μm)滤过,取续滤液作为供试品溶液。按上述色谱条件测定,绘制淫羊藿苷对照品和供试品的色谱图。在供试品色谱图中,与对照品色谱图中相同保留时间处有色谱峰 (图 1)。

2.4 标准曲线与线性范围: 取上述各对照品溶液



* 淫羊藿苷

* icariin

图 1 淫羊藿苷 (A)和淫羊藿提取物 (B)的 HPLC图谱

Fig. 1 HPLC chromatograms of icariin (A) and *Herba Epimedii* extraction (B)

10μL依次进样,每一浓度进样两次,记录色谱图。以峰面积平均值为纵坐标,进样量为横坐标绘制标准曲线,结果表明淫羊藿苷进样量在 0.083 8~2.094 0μg与峰面积线性关系良好,回归方程为 $Y = 2\,283\,512X - 36\,382$, $r = 0.999\,9$。

2.5 精密度试验: 精密吸取同一对照品溶液 (104.7μg/mL) 10μL,重复进样 6次,测定淫羊藿苷的峰面积值,结果 $RSD = 0.20\%$。

2.6 重现性试验: 取同一批样品 (011001) 6份,分别按供试品溶液制备法制备,测定其淫羊藿苷峰面积,计算,样品中淫羊藿苷平均含量为 128.2 mg/g, RSD为 0.85%。

2.7 加样回收率试验: 取已知含量 128.2 mg/g的样品共 9份,每份 30 mg,精密称定,分为 3个梯度,分别精密加入淫羊藿苷对照品溶液 (390.6μg/mL)各 2.5, 5, 10 mL,配制成加样供试品溶液。按供试品溶液制备方法制备,测定含量,计算,结果加样回收率为 98.46%, $RSD = 1.78\%$ ($n = 9$)。

2.8 样品测定: 取 3批提取物,按上述供试品溶液制备方法及色谱条件进行测定,以外标法计算含量,

* 收稿日期: 2002-11-29
作者简介: 王旭东 (1969-),男,四川三台县人,分析工程师,主要从事药品研发与质量标准研究工作。Tel: (028) 85831474-196