

作, 读取挥发油量。

挥发油利用率= 包结物中实际含油量 (mL) / 加入油量 (mL) $\times 100\%$

2.4 结果: 正交试验结果及方差分析见表 2、3。

表 2 $L_9(3^4)$ 正交试验结果

Table 2 Results of $L_9(3^4)$ orthogonal test

实验号	A	B	C	D (空列)	挥发油利 用率/%
1	1	1	1	1	50.35
2	1	2	2	2	84.67
3	1	3	3	3	62.15
4	2	1	2	3	63.23
5	2	2	3	1	82.84
6	2	3	1	2	51.00
7	3	1	3	2	38.24
8	3	2	1	3	66.07
9	3	3	2	1	37.59
K_1	197.17	151.82	167.42	170.42	
K_2	196.71	233.22	185.49	173.26	
K_3	141.90	150.74	182.87	191.45	
k_1	65.72	50.61	55.81	56.81	
k_2	65.57	77.74	61.83	57.75	
k_3	47.30	50.25	60.96	63.82	
R	18.42	27.49	6.02	7.01	

表 3 油利用率的方差分析

Table 3 Variance analysis of oil utilization ratio

方差来源	离均差平方和	自由度	方差	F 值	显著性
A	693.47	2	346.74	15.69	
B	1512.47	2	756.23	34.23	$P < 0.05$
C	83.81	2	41.90	1.89	
D (误差)	44.18	2	22.09		

$F_{0.05}(2, 2) = 19.00$ $F_{0.01}(2, 2) = 99.00$

极差分析结果表明, 以挥发油利用率为考察指标, $A_1B_2C_3$ 为最佳工艺条件, 即投料比为 1:10, 包结温度为 40℃, 搅拌时间为 1 h。方差分析说明, 影响包结效果的主要因素是包结温度, 挥发油 β -环糊精投料比有一定影响, 搅拌时间影响最小。

2.5 空白回收试验: 向 200 mL 蒸馏水中加入 2.00 mL 荆芥、薄荷混合挥发油, 按挥发油包结物提取方法提取挥发油, 重复操作 3 次, 结果挥发油平均利用率为 98.50%。

2.6 验证试验: 按最佳工艺制备 3 份挥发油包结物, 提取挥发油, 结果挥发油利用率为 89.50% ($n=3$)。

3 讨论

3.1 在以往的制剂工艺中, 挥发油直接喷入后, 由于挥发油的挥发性和化学性质不稳定, 随着贮藏期的延长, 挥发油发生质与量的变化, 影响疗效。将其制成包结物后, 增加药物的稳定性, 提高生物利用度。

3.2 本试验采用饱和水溶液法进行包合, 操作方便, 设备要求不高, 便于工业化生产。

References

- [1] Yan J Y, Xia X H. Study on the process of including volatile oil of *Herba Schizonepetae* and *Pericarpium Citri Reticulatae* with β -cyclodextrin [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2003, 25 (8): 612-614.
- [2] Liu L, Xie Q Q, Xu D S. Study on the optimum condition for β -cyclodextrin inclusion compound of volatile oil from *Jingjie* with orthogonal design [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2000, 25(6): 348-349.

中江产丹参药材的指纹图谱研究

夏广萍¹, 潘勤¹, 程英莹¹, 张继奎^{2*}

(1. 天津药物研究院, 天津 300193; 2. 四川新世界丹参基地产业有限公司, 四川 中江 618100)

丹参为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根及根茎, 全国大部分地区均产。丹参活性成分分为以二萜醌类为主的脂溶性化学成分和以酚酸类为主的水溶性化学成分两大类。以丹酚酸为代表的水溶性化学成分应是丹参活血化瘀作用的主要有效组份, 因此药典委员会已新将丹参片的含量测定项由丹参酮 II_A 改为丹酚酸 B。丹参药材因品种、产地、气候、采收期等的不同, 其所含主要成分

差异较大, 造成以丹参为原料的制剂质量相差悬殊。为控制和保证产品质量的稳定性, 本试验依据国家药品监督管理局颁布的《中药注射剂指纹图谱研究的技术要求(暂行)》和国家药典委员会印发的《中药注射剂指纹图谱实验研究技术指南(试行)》对丹参地道产地之一的四川省中江市的丹参药材 GAP 基地所产的丹参药材进行了指纹图谱分析。

1 仪器与材料

* 收稿日期: 2003-12-06

作者简介: 夏广萍(1976—), 女, 天津人, 1999 年毕业于天津中医学院中药系, 现主要从事天然药物质量控制与新药开发。
Tel: (022) 23006959 Fax: (022) 23006834 E-mail: guangpingx@163.com

美国 Waters 公司 Waters515 泵, Waters717 自动进样器, Waters2487 紫外检测器。丹参药材样品由四川省中江市新世界丹参药材基地产业有限公司提供, 经检验均符合《中华人民共和国药典》2000 版一部“丹参”项下的有关规定, 为合格品。丹酚酸 B 对照品(自制, 纯度 99.2%), 乙腈、甲酸均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 检测波长的选择: 参考二极管阵列检测结果, 比照各主要波长下的色谱图, 结果发现 288 nm 测定的色谱峰数多, 各主要峰的响应值均最高, 反应信息较完全, 因此选择 288 nm 作为丹参药材指纹图谱的检测波长。

2.2 色谱条件: 色谱柱: ODS C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水-甲酸(22 78 0.5); 体积流量: 1.0 mL/min; 检测波长: 288 nm; 柱温: 40℃。在该色谱条件下, 色谱图的各主要色谱峰可以良好辨认, 并在 1 h 内出峰完毕。

2.3 供试品溶液的制备: 取丹参药材适量, 粉碎成均能通过三号筛的细粉, 混匀。取药材细粉约 0.6 g, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇溶液约 20 mL, 超声处理 30 min, 取出放冷, 加 50% 甲醇溶液稀释至刻度, 摇匀, 静置, 滤过, 取续滤液, 精密移取 1.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加 50% 甲醇溶液稀释至刻度, 摇匀, 即得。

2.4 参照物溶液的制备: 取丹酚酸 B 对照品适量, 加 50% 甲醇溶液制成 0.1 mg/mL 的溶液, 即得。

2.5 测定方法: 取各供试品溶液 20 μL, 注入高效液相色谱仪, 记录色谱图, 即得。

2.6 方法学考察

2.6.1 空白试验: 吸取流动相 20 μL, 注入高效液

相色谱仪, 记录色谱图, 未见明显色谱峰。

2.6.2 对照试验: 吸取参照物溶液 20 μL, 注入高效液相色谱仪, 记录色谱图和保留时间, 即得。

2.6.3 稳定性试验: 取丹参药材供试品溶液在室温下保存, 分别于 0、4、8、12、24 h 测定, 分别对各峰的相对保留时间和峰面积进行统计。结果表明, 除 S 峰外, 各峰的单峰面积占总峰面积均小于 10%, 按规定可不纳入统计要求, 而丹参药材各色谱峰的相对保留时间基本一致(RSD < 3%), 因此丹参药材指纹图谱稳定性试验符合要求。

2.6.4 精密度试验: 取丹参药材供试品溶液, 注入液相色谱仪, 连续 5 次进样, 分别对各峰的相对保留时间和峰面积进行统计, 结果表明, 除 S 峰外, 各峰的单峰面积占总峰面积均小于 10%, 按规定不纳入统计要求, 而丹参药材各色谱峰的相对保留时间基本一致(RSD < 3%), 因此丹参药材指纹图谱精密度试验符合要求。

2.6.5 重复性试验: 取丹参药材分别称取 5 份, 制成供试品溶液, 注入液相色谱仪进行测定, 分别对各峰的相对保留时间和峰面积进行统计, 结果表明, 除 S 峰外, 各峰的单峰面积占总峰面积均小于 10%, 按规定不纳入统计要求, 而丹参药材各色谱峰的相对保留时间基本一致(RSD < 3%), 因此丹参药材指纹图谱重复性试验符合要求。

2.7 指纹图谱及技术参数: 按上述色谱条件, 分别精密吸取参照物溶液和供试品溶液各 20 μL, 注入液相色谱仪, 测定, 记录 1 h 的色谱图。以供试品指纹图谱中与参照物峰相应的峰为参照峰(S 峰), 计算相对保留时间和峰面积, 相似度以夹角余弦法计算整体相似度, 8 批药材的测定结果见表 1~3。

表 1 丹参药材指纹图谱测定结果(共有峰相对保留时间)

Table 1 Result of fingerprinting of Danshen crude drugs (relative retention time of peak in common)

峰号	相对保留时间								平均值	RSD/%
	1-1	2-1	3-1	4-1	1-2	2-2	3-2	4-2		
1	0.078	0.077	0.077	0.077	0.077	0.077	0.077	0.077	0.077	0.58
2	0.122	0.122	0.122	0.122	0.122	0.122	0.121	0.121	0.122	0.38
3	0.160	0.159	0.160	0.160	0.160	0.160	0.159	0.159	0.160	0.28
4	0.272	0.271	0.272	0.272	0.272	0.272	0.270	0.272	0.272	0.16
5	0.428	0.428	0.429	0.428	0.429	0.429	0.427	0.428	0.428	0.13
6	0.704	0.703	0.703	0.704	0.705	0.706	0.706	0.705	0.704	0.12
7	0.732	0.732	0.733	0.732	0.732	0.732	0.733	0.732	0.732	0.06
8	0.786	0.786	0.786	0.784	0.784	0.784	0.787	0.784	0.785	0.14
9	0.920	0.921	0.923	0.922	0.925	0.925	0.915	0.925	0.922	0.21
10(S)	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0
11	1.099	1.099	1.098	1.097	1.098	1.096	1.101	1.097	1.098	0.08
12	1.317	1.318	1.319	1.320	1.321	1.320	1.314	1.321	1.319	0.12
13	1.749	1.749	1.745	1.742	1.739	1.734	1.757	1.738	1.745	0.25

表 2 丹参药材指纹图谱统计结果(共有峰峰面积)

Table 2 Statistical result of fingerprinting of Danshen crude drugs (peak area of peak in common)

峰号	峰 面 积								平均值
	1-1	2-1	3-1	4-1	1-2	2-2	3-2	4-2	
1	13 300	15 384	17 235	15 145	19 319	18 741	12 818	18 778	16 340
2	13 630	14 432	13 494	13 486	15 124	17 904	14 854	18 682	15 201
3	12 426	13 342	13 154	12 997	16 149	20 263	13 661	19 940	15 242
4	16 779	13 869	13 349	16 121	12 132	16 976	16 067	14 097	14 924
5	23 378	18 011	15 660	20 969	15 504	24 225	21 530	22 288	20 196
6	61 058	62 407	66 566	58 731	76 991	89 225	60 778	86 107	70 233
7									
8	113 668	146 116	123 341	109 357	148 046	110 086	111 201	129 609	123 928
9	7 936	8 760	6 916	8 216	10 596	5 149	4 409	7 716	7 462
10(S)	1 371 669	1 790 355	1 999 471	1 425 860	1 889 641	1 321 390	1 435 494	1 511 966	1 593 231
11	18 259	20 192	22 151	15 447	17 824	12 461	19 047	14 947	17 541
12	30 222	22 496	30 157	22 508	25 736	23 295	21 732	17 684	24 229
13	14 061	18 424	25 274	14 915	20 439	29 051	17 970	31 327	21 433
相似度	0.999 94	0.999 94	0.999 76	0.999 97	0.999 95	0.999 55	0.999 98	0.999 80	0.999 98

表 3 丹参药材指纹图谱统计结果(非共有峰峰面积)

Table 3 Statistical result of fingerprinting of Danshen crude drugs

保留时间/min	非共有峰面积(占总峰面积百分比)							
	1-1	2-1	3-1	4-1	1-2	2-2	3-2	4-2
6.1	-	-	-	-	-	-	-	4 446 (0.23%)
7.7	-	-	-	-	4 703 (0.21%)	-	-	-
8.8	4 469 (0.26%)	6 891 (0.32%)	7 363 (0.31%)	7 296 (0.42%)	8 672 (0.38%)	7 075 (0.42%)	-	6 748 (0.35%)
13.9	7 982 (0.47%)	7 399 (0.34%)	8 044 (0.34%)	-	-	-	-	-
非共有峰总面积占 总峰面积百分比	0.73%	0.66%	0.65%	0.42%	0.59%	0.42%	0.00%	0.58%

分析 8 批中江丹参药材的测定结果, 比较其色谱图, 其中 13 个峰是各批供试品所共有的, 因此确定共有峰可以有 13 个。在共有指纹峰中, 除 S 峰外, 峰面积大于总峰面积 10% 的峰不存在, 所以各共有峰均按其相对保留时间定性, 并暂订与标准指纹图谱相比, 相似度应 ≥ 0.90 。

非共有峰面积: 根据 8 批样品的测定结果, 丹参药材供试品图谱与标准指纹图谱比较, 暂定非共有峰总面积不得超过总峰面积的 10%。

3 讨论

通过试验证实该测定方法稳定可靠, 可用于丹参药材的指纹检测。指纹图谱检查结果显示四川省中江市 GAP 丹参药材基地产业有限公司所产丹参质量稳定可控, 所提供样品的指纹图谱相对稳定。

四川省中江市历来是丹参的主要产地之一, 有着悠久的栽培历史, 被公认为是丹参药材的地道产地之一, 因此对地道产地的药材制订合理的指纹图谱检查项将有助于确保药材的地道性, 突出其内在质量特点。

《中草药》杂志被确认为允许刊载处方药广告的第一批医药专业媒体

据国家药品监督管理局、国家工商行政管理局和国家新闻出版总署发布的通知,《中草药》杂志作为第一批医药专业媒体, 允许发布“粉针剂、大输液类和已经正式发文明确, 必须凭医生处方才能销售、购买和使用的品种以及抗生素类的处方药”广告。

电话: (022) 27474913 23006821 传真: 23006821 联系人: 陈常青