

益心康滴丸的质量标准研究

赵倩¹, 肖学风^{1*}, 侯文彬², 李祎亮²

(1. 天津中医药大学, 天津 300193; 2. 天津药物研究院, 天津 300193)

益心康滴丸是天津市南开中医院的医院制剂, 由丹参、西洋参、麦冬、五味子组成, 具有益气养血、活血通脉的功效, 用于心悸、胸闷、憋气、乏力、冠心病、心肌缺血、心绞痛、心肌梗死恢复期、心肌炎的治疗。为了有效地控制其质量, 本实验采用 TLC 法对其中的西洋参和麦冬进行了定性鉴别, 同时采用 HPLC 法对君药丹参中酚酸类成分丹酚酸 B 进行了测定。

1 仪器和材料

Dionex 高效液相色谱仪, 包括 P680 泵, ASI-100 自动进样器, UVD170U 紫外检测器, Chromeleon 色谱工作站; 旋转薄膜蒸发器; CAMAG 展开缸。

丹酚酸 B 对照品购自中国药品生物制品检定所, 批号 11562-200302; 丹参、西洋参、麦冬对照药材和人参皂苷 Rb₁、Re、Rg₁ 对照品均购自中国药品生物制品检定所; 益心康滴丸为自制; 硅胶 G 预制板 (10 cm×10 cm); 甲醇、乙腈 (色谱纯), 高纯水, 其余试剂均为分析纯。

2 薄层色谱鉴别

2.1 西洋参的鉴别^[1,2]: 取人参皂苷 Rb₁、Re、Rg₁ 对照品适量, 用甲醇制成质量浓度均为 0.5 mg/mL 的混合对照品溶液; 精密称取益心康滴丸 20 粒, 加水 150 mL, 超声处理 30 min, 静置, 滤过, 用水饱和和正丁醇萃取 3 次 (50 mL×3), 合并正丁醇层, 水浴上蒸干溶剂, 残渣以 2 mL 甲醇分次溶解, 定容在 2 mL 量瓶内, 作为供试品溶液; 取缺西洋参的阴性制剂, 同法制得阴性对照溶液。取上述 3 种溶液各 10 μL, 分别点于同一块硅胶 G 薄层板 (110 °C 活化 1 h) 上, 以氯仿-甲醇-水 (69 : 27 : 4) 展开, 取出晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 105 °C 显色, 结果在样品的谱带中与对照品谱带中相应的位置上有相同颜色的斑点, 阴性无干扰 (图 1)。

2.2 麦冬的鉴别^[3]: 取益心康滴丸 20 粒, 加 50% 乙醇 100 mL, 加盐酸 0.5 mL, 加热煮沸 20 min, 放冷, 蒸去乙醇, 加水至 50 mL, 用氯仿萃取 3 次 (20 mL×

3), 分取氯仿液, 浓缩至约 1 mL, 作为供试品溶液; 另取麦冬对照药材 1 g, 加水 20 mL, 煎煮 10 min, 滤过, 滤液加盐酸 0.5 mL, 同法制成对照药材溶液; 取缺麦冬的阴性制剂, 同法制得阴性对照溶液。吸取上述 3 种溶液各 10 μL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-丙酮 (8 : 1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 10% 硫酸乙醇溶液, 于 100 °C 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 阴性对照在相应位置上无斑点 (图 2)。

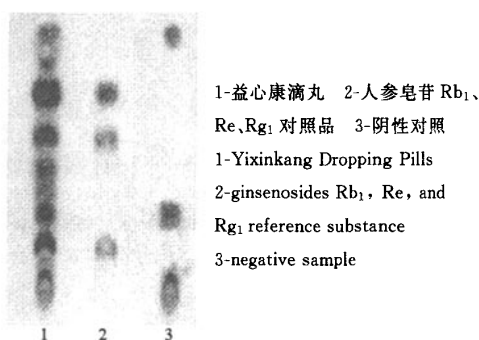


图 1 益心康滴丸中西洋参的薄层色谱图

Fig. 1 TLC Chromatograms of American ginseng in Yixinkang Dropping Pills

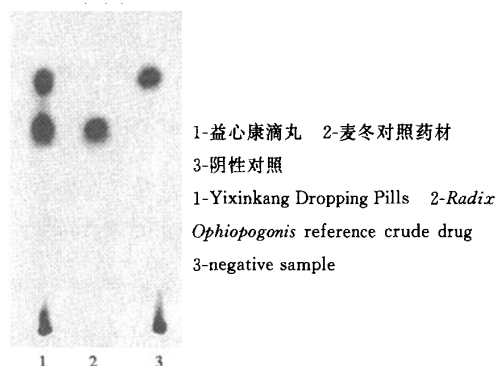


图 2 益心康滴丸中麦冬的薄层色谱图

Fig. 2 TLC Chromatograms of Radix Ophiopogonis in Yixinkang Dropping Pills

3 丹酚酸 B 的 HPLC 法测定

3.1 色谱条件:色谱柱为 Luna C₁₈(2)(250 mm × 4.60 mm, 5 μm);流动相:甲醇-乙腈-甲酸-水(25:10:64:1);体积流量:1.0 mL/min;检测波长:286 nm;柱温:40 ℃。理论板数按丹酚酸 B 峰计算大于 2 000。

3.2 对照品溶液的制备:取丹酚酸 B 对照品适量,精密称定,加甲醇制成 0.1 mg/mL 的溶液,摇匀,即得。

3.3 供试品溶液的制备:取益心康滴丸 20 粒,研细,精密称取 0.3 g,置 50 mL 量瓶中,加 50%乙醇 40 mL,超声处理(100 W, 40 kHz)30 min,放冷,用 50%乙醇稀释至刻度,摇匀,滤过,即得。

3.4 空白试验:取不含丹参的阴性制剂,按供试品溶液的制备方法操作,制备,即得。取对照品溶液、供试品溶液和阴性对照溶液进样测定,结果丹酚酸 B 与其他组分均能达到基线分离,阴性无干扰,见图 3。

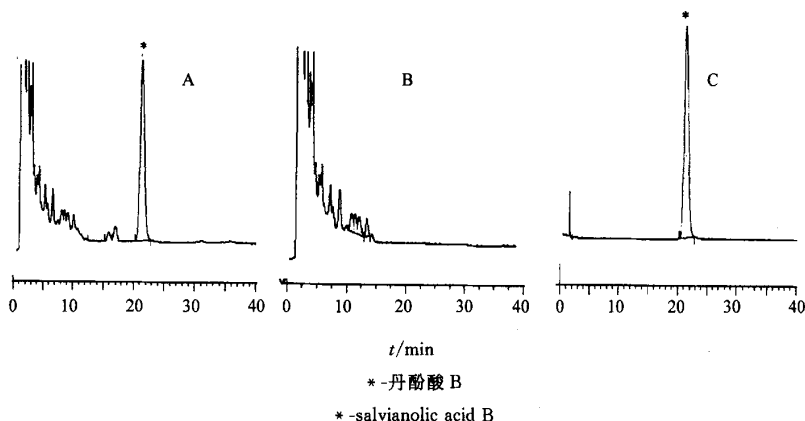


图3 益心康滴丸(A)、阴性样品(B)和丹酚酸 B 对照品(C)的高效液相色谱图

Fig. 3 HPLC Chromatogram of Yixinkang Dropping Pills (A), negative sample (B), and salvianolic acid B reference substance (C)

3.5 标准曲线的制备:分别精密吸取丹酚酸 B 对照品溶液 2.5、5、10、15、20 μL 注入高效液相色谱仪中,进样测定峰面积值。以丹酚酸 B 质量为横坐标,峰面积值为纵坐标,计算得线性回归方程 $Y = 1\,050.76 X - 20.64$, $r = 0.999$,表明丹酚酸 B 在 0.25~2.0 μg 与峰面积值具有良好的线性关系。

3.6 精密度试验:取批号 050620 益心康滴丸制备的供试品溶液 10 μL,注入液相色谱仪,连续进样 6 次,测定丹酚酸 B 峰面积,计算得其 RSD 为 0.54%。

3.7 稳定性试验:取批号 050620 益心康滴丸制备的供试品溶液 10 μL,在 0、4、8、16、24 h 进样,测定丹酚酸 B 峰面积,计算得其 RSD 为 1.09%。

3.8 重现性试验:取批号 050620 益心康滴丸样品 6 份,制备供试品溶液,取 10 μL,进样测定丹酚酸 B 峰面积,计算丹酚酸 B 的质量分数,得其 RSD 为 1.83%。

3.9 回收率试验:取批号 050620 益心康滴丸适量,研细,取 0.15 g,加入丹酚酸 B 对照品 2.5 mg,制备供试品溶液。进样测定,计算,结果平均回收率为 100.51%,RSD 为 0.50% ($n=6$)。

3.10 样品的测定:精密称取 3 批样品益心康滴丸,制备供试品溶液。取供试品溶液和丹酚酸 B 对照品溶液各 10 μL,进样测定峰面积值,采用外标法计算丹酚酸 B 的质量分数,结果见表 1。

表 1 益心康滴丸中丹酚酸 B 的测定结果 ($n=3$)

Table 1 Determination of salvianolic acid B in Yixinkang Dropping Pills ($n=3$)

批号	丹酚酸 B/(mg·粒 ⁻¹)	RSD/%
050620	1.02	0.94
050624	1.15	1.26
050629	1.26	1.08

4 讨论

益心康滴丸中丹参为方中主药,其主要成分为丹参酚酸类,因此实验采用高效液相色谱法测定丹酚酸 B 的量以控制本品质量。

实验采用《中国药典》2005 年版一部丹参项下方法测定,但是丹酚酸 B 在 10 min 出峰,阴性有干扰,所以调整流动相比例为甲醇-乙腈-甲酸-水(25:10:64:1),结果表明方法简便易行,结果准确,重现性好。

References:

- [1] Hou W B, Dou D Q, Pei Y P, *et al.* Studies on the different

characteristic ginsenoside in ginseng (*Panax ginseng*) and American ginseng (*Panax quinquefolius*) by TLC-scanning [J]. *Tradit Chin Herb Drugs* (中草药), 1999, 30(7): 540-541.

[2] Chu K D, Huang Y, Ye J C, et al. Capsule of Tanluotong by

TLC [J]. *Strait Pharm J* (海峡药学), 2005, 17(6): 64-67.

[3] Tian H, Huang H X. Investigation on quality of Shengmai Oral Liquid [J]. *Res Pract Chin Med* (现代中药研究与实践), 2004, 18(3): 43-44.

金银花水提工艺中绿原酸变化的研究

段晓颖

(河南中医学院第一附属医院 中药制剂实验室, 河南 郑州 450000)

金银花是常用药材之一, 主要成分为绿原酸和异绿原酸。该两个成分易溶于水 and 乙醇^[1]。为降低生产成本, 本实验选用廉价易得的水为提取溶媒, 以绿原酸的提取量为指标, 采用正交试验法优选金银花的最佳水煎工艺, 并考察金银花水煎液在浓缩、醇沉、干燥过程中绿原酸的损失率, 为指导金银花生产提供依据。

1 仪器与试药

Waters 2695 型高效液相色谱仪(自动进样器, 四元泵, 2996 型二极管阵列检测器), Empower2 工作软件, Sartorius cp225D 型电子天平。

金银花药材购自安徽亳州, 经鉴定为忍冬 *Lonicera japonica* Thunb. 的干燥花蕾; 绿原酸对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110753-200413); 乙腈为色谱纯, 水为超纯水, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 绿原酸的 HPLC 法测定^[2]

2.1.1 色谱条件: 色谱柱为 Agilent Zorbax Eclipse SB-C₁₈ 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.4% 磷酸溶液(13: 87); 检测波长: 327 nm; 柱温: 室温; 体积流量: 1.0 mL/min。

2.1.2 对照品溶液制备: 精密称取绿原酸对照品 4.8 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 即得(0.096 mg/mL)。

2.1.3 供试品溶液的制备: 各精密吸取正交试验水煎液及醇沉液适量(约相当于金银花 50 mg), 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 即得; 精密称取稠浸膏及干浸膏适量(约相当于金银花 50 mg), 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇 20 mL, 超声处理 20

min, 放冷, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 即得。

2.1.4 测定法: 分别精密吸取绿原酸对照品溶液和供试品溶液各 5 μL, 注入液相色谱仪, 进样测定, 即得。

2.2 金银花水提工艺的优选

2.2.1 因素水平的确定: 选取加水倍数(A)、煎煮时间(B)、煎煮次数(C)作为考察因素, 每因素设计 3 个水平, 见表 1。

表 1 因素与水平

Table 1 Factors and levels

水平	因 素		
	A/倍	B/h	C/次
1	8	1	1
2	10	1.5	2
3	12	2	3

2.2.2 正交试验结果与分析: 取金银花 9 份, 每份 100 g, 按照 L₉(3⁴) 正交试验表设计, 加水煎煮, 测定煎液中绿原酸的质量浓度, 计算其提取量, 并进行方差分析, 结果见表 2、3。结果表明, 因素 A(加水倍数)有显著性差异, A₃ > A₂ > A₁; 因素 C(煎煮次数)具有极显著性差异, C₃ > C₂ > C₁, 选择最高水平 A₃C₃; 因素 B(煎煮时间)无显著性差异, 从节约生产时间和能源的角度考虑, 选择最低水平 B₁。金银花最佳提取工艺为 A₃B₁C₃, 即加水 12 倍, 煎煮 3 次, 每次 1 h。

2.3 醇沉各工艺步骤中绿原酸变化的考察: 按金银花最佳提取工艺制备水煎液, 减压浓缩至相对密度为 1.15 的浸膏。将浸膏边加乙醇边搅拌, 使乙醇体积分数达 50%, 静置 24 h, 滤过, 得醇沉液。醇沉液减压回收乙醇, 并减压浓缩成相对密度为 1.30 的稠

收稿日期: 2007-01-17

基金项目: 河南省科技攻关项目(0524420029)

作者简介: 段晓颖(1966—), 女, 河南郑州人, 副主任药师, 副教授, 医学硕士, 硕士生导师, 研究方向为中药新技术与新药研究, 在该领域获省级和厅局级奖 8 项。Tel: (0371)66233639 Fax: (0371)66245142 E-mail: dxy5288828@sina.com