

通脉丸的质量标准研究^Δ

崔思娇^{1*}, 于士龙¹, 薛 强¹, 杨光照², 钟文雨¹, 徐菁阳¹, 牛 佳¹, 汪 宇^{1#}(1.解放军第463医院, 沈阳110042; 2.沈阳军区总医院, 沈阳 110016)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)06-0821-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.06.32

摘要 目的:建立通脉丸的质量标准。方法:采用薄层色谱(TLC)法对制剂中丹参、当归、红花进行定性鉴别。采用高效液相色谱法测定制剂中阿魏酸的含量;色谱柱为Diamonsil C₁₈,流动相为乙腈-0.1%磷酸(17:83, V/V),流速为1 ml/min,检测波长为316 nm,柱温为30 ℃,进样量为10 μl。结果:丹参、当归、红花TLC图斑点清晰,分离度好。阿魏酸检测质量浓度线性范围为8~80 μg/ml($r=0.999\ 8$);精密度、稳定性、重复性试验的RSD<2%;加样回收率为97.2%~99.6%(RSD=1.2%, $n=6$)。结论:该研究所建标准可用于通脉丸的质量控制。
关键词 通脉丸;质量控制;薄层色谱法;高效液相色谱法

Study on the Quality Standard of Tongmai Pill

CUI Sijiao¹, YU Shilong¹, XUE Qiang¹, YANG Guangzhao², ZHONG Wenyu¹, XU Jingyang¹, NIU Jia¹, WANG Yu¹
(1.No. 463 hospital of PLA, Shenyang 110042, China; 2.The General Hospital of Shenyang Military Command, Shenyang 110016, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the quality standard for Tongmai pill. METHODS: TLC was used for the qualitative identification of *Salvia miltiorrhiza*, *Angelica sinensis* and *Carthamus tinctorius*. HPLC was used for the content determination of ferulic acid. The column was Diamonsil C₁₈ with mobile phase of acetonitrile-0.1% aqueous phosphoric acid (17:83, V/V) at a flow rate of 1 ml/min, the detection wavelength was 316 nm, the column temperature was 30 ℃, and the injection volume was 10 μl. RESULTS: The TLC of *S. miltiorrhiza*, *A. sinensis* and *C. tinctorius* showed clear spots and good separation. The linear range of ferulic acid was 8-80 μg/ml($r=0.999\ 8$); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%; recovery was 97.2%-99.6%(RSD=1.2%, $n=6$). CONCLUSIONS: The standard can be used for the quality control of Tongmai pill.
KEYWORDS Tongmai pill; Quality standard; TLC; HPLC

通脉丸为解放军第463医院中医师经过多年临床试验研制的一种中药制剂,本方重用君药当归、丹参,增强其补血活血、化瘀止痛功效;臣以红花、蜈蚣、全蝎入药,起活血化瘀、通络散结止痉作用,与君药协同增效;又佐以黄芪、白芍、白术,起补脾益气、软肝通经、固表脱毒的功效;最后以炙甘草调和诸药。经大量临床实践证明,通脉丸对脉管炎、静脉炎、大动脉炎、动脉硬化性坏疽、糖尿病性坏疽、雷诺氏病有良好的疗效。鉴于该制剂质量控制标准较为单一,未能更好地保证制剂质量,笔者通过薄层色谱(TLC)法鉴别制剂中丹参、当归、红花,采用高效液相色谱(HPLC)法测定其指标成分阿魏酸的含量^[1-10],为其新质量标准提供数据支持。

1 材料

1.1 仪器

SSI III型HPLC仪,包括紫外检测器(美国SSI公司);AE240型电子天平(德国Satorius公司);CSF-1B型超声波清洗器(上海医疗器械厂);HH·S型电热恒温水浴锅(江苏红旗医疗器械厂);ZF-C型三用紫外分析仪(上海康禾光电仪器有限公司)。

Δ 基金项目:军队医疗机构制剂标准提高专项课题(No.14ZJZ03)
* 药师,硕士。研究方向:中药制剂及质量控制。电话:024-28845262。E-mail: Sijiao2228@sina.com

通信作者:主任药师,博士。研究方向:临床药学,生物技术在药学和中药学中的应用。电话:024-28845259。E-mail: Ygz463463@sina.com

公司)。

1.2 药品与试剂

通脉丸(解放军第463医院制剂室自制,批号:20150108、20150325、20150618,规格:0.6 g/10丸);丹参对照药材(批号:120923-201414)、当归对照药材(批号:120927-201516)、红花对照药材(批号:120907-201010)、阿魏酸对照品(批号:110773-201313,纯度:99.6%)均购自中国食品药品检定研究院;硅胶G254薄层板、硅胶G薄层板(青岛海洋化工厂);乙腈、甲醇为色谱纯,甲苯、石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲酸均为分析纯,水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 定性鉴别

2.1.1 丹参 取样品粉末10 g,加甲醇30 ml,超声(功率:250 W,频率:40 kHz,下同)处理60 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇1 ml使溶解,制成供试品溶液;另取丹参对照药材粉末(过4号筛)1 g,加甲醇10 ml,按供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。按通脉丸处方和制备工艺制备缺丹参的阴性样品,并按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按TLC法[2010年版《中国药典》(一部)附录VIB]^[11]试验,吸取上述3种溶液各10 μl,分别点于同一硅胶G254薄层板上,以甲苯-二氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(2:3:4:0.5:2, V/V/V/V/V)为展开剂,置于氨蒸气饱和的展开缸内,展开,取出,晾干,置紫外光灯(254 nm)下检视。结果显示,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位

置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰,详见图1。

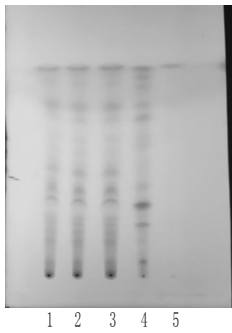


图1 丹参的薄层色谱图

1~3.供试品;4.对照药材;5.阴性对照

Fig 1 TLC chromatograms of *Salvia miltiorrhiza*

1-3.test samples; 4.medicinal material reference substance ; 5.negative control

2.1.2 当归 取样品粉末5 g,加乙醚20 ml,超声处理10 min,滤过,滤液挥干,残渣加乙醇1 ml使溶解,制成供试品溶液;另取当归对照药材粉末(过4号筛)1 g,加甲醇10 ml使溶解,按供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。按通脉丸处方和制备工艺制备缺当归的阴性样品,并按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按TLC法[2010年版《中国药典》(一部)附录VIB]^[1]试验,吸取上述3种溶液各10 μ l,分别点于同一硅胶G薄层板上,以油醚-乙酸乙酯(25:2, *V/V*)为展开剂,置于氨蒸气饱和的展开缸内,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视。结果显示,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰,详见图2。

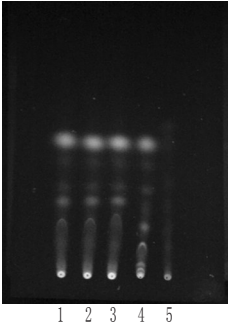


图2 当归的薄层色谱图

1~3.供试品;4.对照药材;5.阴性对照

Fig 2 TLC chromatograms of *Angelica sinensis*

1-3.test samples; 4.medicinal material reference substance; 5.negative control

2.1.3 红花 取样品粉末10 g,加水饱和和正丁醇30 ml,超声处理30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加甲醇1 ml使溶解,制成供试品溶液;另取红花对照药材粉末(过4号筛)1 g,加水饱和和正丁醇10 ml使溶解,按供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。按通脉丸处方和制备工艺制备缺红花的阴性样品,并按供试品溶液制备方法制成阴性对照溶液。按TLC法[2010年版《中国药典》(一部)附录VIB]^[1]试验,吸取上述3种溶液各10 μ l,分别点于同一硅胶G薄层板上,以油乙酸乙酯-甲酸-水-甲醇(7:2:3:0.4, *V/V/V/V*)为展开剂,置于氨蒸气饱和的展开缸内,展开,取出,晾干,日光下检视。结果显示,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应位置上显相同颜色的斑点,阴性对照无干扰,详见图3。

2.2 含量测定

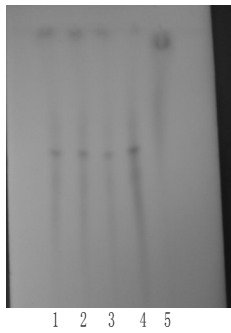


图3 红花的薄层色谱图

1~3.供试品;4.对照药材;5.阴性对照

Fig 3 TLC chromatograms of *Carthamus tinctorius*

1-3.test samples; 4.medicinal material reference substance; 5.negative control

2.2.1 色谱条件 色谱柱:Diamonsil C₁₈(250 mm $\times$ 4.6 mm,5 μ m);流动相:乙腈-0.1%磷酸(17:83, *V/V*),流速:1 ml/min;检测波长:316 nm,柱温:30 $^{\circ}$ C;进样量:10 μ l。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称定阿魏酸对照品适量,加甲醇溶解,制成每1 ml含0.080 mg阿魏酸的对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 将样品适当粉碎,取约5.0 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,加70%甲醇100 ml超声处理30 min,滤过,置于100 ml量瓶中,加70%甲醇定容,即得。

2.2.4 阴性对照溶液的制备 按通脉丸处方和制备工艺制备缺当归的阴性样品,并按“2.2.3”项下方法制成阴性对照溶液。

2.2.5 系统适用性试验 取“2.2.2”“2.2.3”“2.2.4”项下对照品溶液、供试品溶液、阴性对照溶液各适量,分别按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。在上述色谱条件下,理论板数以阿魏酸峰计不低于3 000,分离度 >1.5 。色谱见图4。

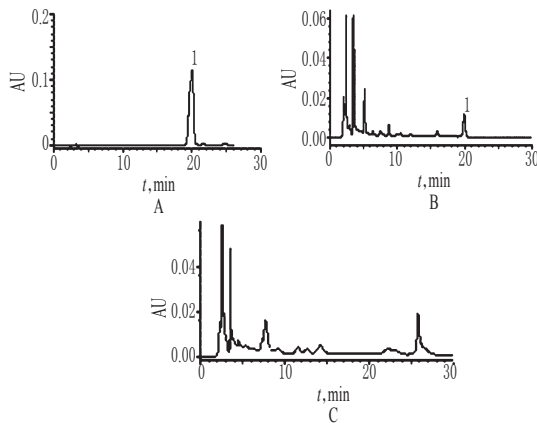


图4 高效液相色谱图

A.对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.阿魏酸

Fig 4 HPLC chromatograms

A.reference substance; B.test sample; C.negative control; 1.ferulic acid

2.2.6 线性关系考察 分别精密量取“2.2.2”项下对照品溶液适量,倍比稀释,制成质量浓度分别为8、16、32、64、128 μ g/ml的系列对照品溶液。精密量取上述系列对照品溶液各10 μ l,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以阿魏酸质量浓度(*x*, μ g/ml)为横坐标、峰面积(*y*)为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $y=67\ 507x-450\ 896$ ($r=0.999\ 8$)。结果表明,阿魏酸检测质量浓度线性范围为8~80 μ g/ml。

2.2.7 精密度试验 取“2.2.2”项下对照品溶液适量,按“2.2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,阿魏酸峰面积的RSD=1.1%($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.2.8 稳定性试验 取“2.2.3”项下供试品溶液(批号:20150108)适量,分别于放置0、2、4、8、10、12、24 h时进样测定,记录峰面积。结果,阿魏酸峰面积的RSD=1.4%(n=7),表明供试品溶液在24 h内基本稳定。

2.2.9 重复性试验 精密称取同一批样品(批号:20150108)适量,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,阿魏酸峰面积的RSD=1.5%(n=6),表明本方法重复性良好。

2.2.10 加样回收试验 取已知含量样品(批号:20150108)适量,共6份,分别加入一定质量的阿魏酸对照品,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,计算样品含量,并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果(n=6)

Tab 1 Results of recovery test(n=6)						
称样量,g	样品含量,μg	加入量,μg	测得量,μg	加样回收率,%	平均加样回收率,%	RSD,%
5.000 8	495.1	500.0	988.3	98.6		
5.001 9	495.2	500.0	992.6	99.5		
5.001 5	495.2	500.0	981.1	97.2	98.2	1.2%
5.000 9	495.1	500.0	980.9	97.2		
5.000 2	495.0	500.0	993.1	99.6		
5.000 8	495.1	500.0	979.9	97.0		

2.2.11 样品含量测定 取3批样品各适量,分别按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,计算样品含量,结果见表2。

表2 样品含量测定结果(n=3)

Tab 2 Results of contents determination of samples(n=3)	
样品批号	阿魏酸,mg/g
20150108	0.099 0
20150325	0.099 5
20150618	0.098 5

3 讨论

本试验在原有标准基础上增了制剂中丹参、红花和当归三大主要药味的TLC鉴别,对展开系统和显色方法进行了考察和优化。笔者在对丹参展开系统考察时,发现使用石油醚-二氯甲烷-乙酸乙酯系统展开时阴性供试品有干扰斑点出现,故通过改变展开系统组成和比例,最终确定以甲苯-二氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(2:3:4:0.5:2)进行展开,结果斑点清晰

且分离良好。而对红花的展开系统考察时,比较了几种展开系统后最终选择以乙酸乙酯-甲醇-水进行展开,但是斑点有拖尾现象,增加甲酸用来改善斑点性状,优化展开条件,并最终确定以乙酸乙酯-甲醇-甲酸-水(7:0.4:2:3)展开系统分离,取得了满意的展开效果。

2010年版《中国药典》(一部)规定当归含阿魏酸不得低于0.050%,通脉丸制剂中当归处方量占11.7%,药品为原粉制剂,阿魏酸纯化率按80%计,则拟定限度为0.047 mg/g。经测定,批号为20150108的制剂中阿魏酸含量为0.099 0 mg/g,按纯化率80%计,应不低于0.092 mg/g,各批通脉丸含量测定结果均不少于0.099 mg/g,符合规定。本研究所建标准可用于通脉丸的质量控制。

参考文献

[1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:附录VI B.

[2] 沈小静,陈国芹,陈阿丽,等.通脉复方有效部位中阿魏酸的含量测定[J].河南中医,2013,33(5):794.

[3] 黄丰阳,徐秋萍.中药有效成分的抗血小板作用研究进展[J].北京中医药大学学报,1999,22(2):28.

[4] 赵贾漪,曾贝贝,王其中.祛脂胶囊质量标准研究[J].时珍国医国药,2015,26(3):606.

[5] 胡北,马宏达,张朝绅,等.和肝利胆颗粒的质量标准研究[J].中国药房,2014,25(39):3 679.

[6] 孙露萍,王举涛.胃炎康颗粒的质量标准研究[J].时珍国医国药,2015,26(4):891.

[7] 董惠文.高效液相色谱法测定镇脑宁胶囊中葛根素和阿魏酸的含量[J].海峡药学,2011,23(7):69.

[8] 薛改进,赵云丽,郝杰,等.HPLC法同时测定抗敏颗粒中芍药苷、毛蕊异黄酮苷和阿魏酸的含量[J].中国药房,2010,21(23):2 168.

[9] 贺云彪,刘军,伍良知.高效液相色谱法测定当归养血丸中阿魏酸含量[J].中国现代药物应用,2010,4(16):21.

[10] 李莉,苏华,张玉红.灯盏生脉胶囊质量标准研究[J].中国新药与临床杂志,2010,29(3):214.

(收稿日期:2015-10-10 修回日期:2015-12-15)

(编辑:张 静)

全国食品经营监管工作会议在京召开

本刊讯 2016年1月20日至21日,全国食品经营监管工作会议在京召开。会议指出,2015年,主要工作成效体现在五个方面。

在制度建设方面,配合《食品安全法》的贯彻实施,出台《食品经营许可管理办法》、《食品召回管理办法》、《食用农产品市场销售质量安全监督管理办法》等规章,下发食品经营许可审查通则、食品经营许可数据库建设标准等食品经营许可制度规范,初步形成了食品经营监管制度新体系框架。

在食品经营许可制度改革方面,将食品销售和餐饮服务许可整合为食品经营许可,按照主体业态和经营项目的风险程度实施分类许可,初步完成食品经营许可数据库平台建设,构建了食品经营许可新机制。

在食用农产品销售监管方面,总局与农业部进一步加强食用农产品产地准出与市场准入管理衔接机制的沟通协调,

对畜禽产品联合下发监管工作意见,全国已有30个省(区、市)食品药品监管部门以各种形式与当地农业部门建立食用农产品质量安全监管衔接协作机制,实现了监管机制突破。

在日常监管和重点问题治理方面,总局组织研究并制定食品行业共性问题及对策清单。各地坚持以问题为导向、风险管理为核心,着眼监管重点,加大日常监督检查力度,组织开展专项检查和治理,及时发现、纠正和查处了一大批违法违规行为。

在农村食品安全监管工作方面,总局联合公安部、农业部、工商总局等部门共同下发《关于进一步加强农村食品安全治理工作的意见》,并下发《关于进一步强化农村集体聚餐食品安全风险防控的指导意见》,在农村着力实现由食品市场监管向食品安全治理的转变。