

川参胶囊的质量标准提高研究[△]

赵超^{1*}, 白晓丹², 李锐莉¹, 杨志福¹, 文爱东¹, 曹金一^{1#} (1.空军军医大学第一附属医院药学部, 西安 710032; 2.空军军医大学第二附属医院药学部, 西安 710038)

中图分类号 R286 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)21-2902-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.21.06

摘要 目的:完善和提高川参胶囊的质量标准。方法:参考2015年版《中国药典》(一部)操作,采用薄层色谱(TLC)法对川参胶囊中丹参、川芎、红花、赤芍进行定性鉴别。采用高效液相色谱法(HPLC)测定制剂中阿魏酸、丹参酮Ⅱ_A的含量,阿魏酸、丹参酮Ⅱ_A测定的色谱柱均为Kromasil C₁₈,流动相分别为甲醇-1%醋酸溶液(30:70, V/V)、甲醇-水溶液(85:15, V/V),检测波长分别为321、270 nm,流速均为1.2 mL/min,柱温分别为40、25 °C,进样量分别为10、20 μL。结果:在丹参、川芎、红花、赤芍TLC供试品图谱中,在与对照图谱相应位置上显相同颜色的斑点。阿魏酸、丹参酮Ⅱ_A的线性范围分别为4.48~112.00、5.88~210.00 μg/mL ($R^2=0.999\ 0, 0.999\ 9$),平均回收率分别为102.22%、102.23% (RSD=1.63%、1.22%, $n=6$),精密度、稳定性、重复性试验的RSD均小于2% ($n=6$),平均含量分别为0.118 4、0.221 mg/粒 ($n=3$)。结论:本研究通过定性、定量方法完善了川参胶囊的质量标准,并初步拟定其中有效成分阿魏酸的含量不低于0.10 mg/粒,丹参酮Ⅱ_A的含量不低于0.18 mg/粒。

关键词 川参胶囊;质量标准;高效液相色谱法;薄层色谱法;阿魏酸;丹参酮Ⅱ_A;含量测定

Study on the Improvement of Quality Standard for Chuanshen Capsules

ZHAO Chao¹, BAI Xiaodan², LI Ruili¹, YANG Zhifu¹, WEN Aidong¹, CAO Jinyi¹ (1.Dept. of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Air Force Military Medical University, Xi'an 710032, China; 2.Dept. of Pharmacy, the Second Affiliated Hospital of Air Force Military Medical University, Xi'an 710038, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize and improve the quality standard for Chuanshen capsules. METHODS: Referring to 2015 edition of *Chinese Pharmacopeia* (I), *Salvia miltiorrhizae*, *Chuanxiong rhizome*, *Carthami flos* and *Paeonia radix rubra* were identified qualitatively by TLC. The contents of ferulic acid and tanshinone II_A were determined by HPLC. The determination of ferulic acid and tanshinone II_A were performed on Kromasil C₁₈ column with mobile phase consisted of methanol-1% acetic acid solution (30:70, V/V) and methanol-water (85:15, V/V) at the flow rate of 1.2 mL/min. The detection wavelengths were set at 321 nm and 270 nm. The column temperature was set at 40 °C and 25 °C. The sample sizes were 10 μL and 20 μL. RESULTS: In TLC of *S. miltiorrhizae*, *C. rhizome*, *C. flos* and *Paeonia radix rubra* test samples, same color spots were shown in the corresponding positions of the control chromatogram. The linear range of ferulic acid and tanshinone II_A were 4.48-112.00 and 5.88-210.00 μg/mL ($R^2=0.999\ 0, 0.999\ 9$), respectively. The average recoveries were 102.22% and 102.23% (RSD=1.63%, 1.22%, $n=6$), respectively. RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 2% ($n=6$). The average contents of them were 0.118 4 and 0.221 mg/capsule ($n=3$), respectively. CONCLUSIONS: The study improves the quality standard of Chuanshen capsules with qualitative and quantitative methods, and preliminarily formulated the content of ferulic acid is not less than 0.10 mg/capsule and tanshinone II_A is not less than 0.18 mg/capsule.

KEYWORDS Chuanshen capsules; Quality standard; HPLC; TLC; Ferulic acid; Tanshinone II_A; Content determination

川参胶囊为《解放军医疗机构制剂规范》收录品种,处方由丹参、川芎、红花、赤芍、菊花、远志、山楂和甘草等七味中药组成,具有活血化瘀、行气止痛、平肝熄风的功效,主治高血压、高脂血症、冠心病、脑动脉硬化症之

血瘀气滞,对高血压眼底病变、静脉阻塞、视网膜中央动脉栓塞、缺血性视神经病变等疾病具有改善作用^[1]。但川参胶囊现行标准落后,只建立了丹参、川芎的薄层色谱(TLC)定性鉴别方法,且样品前处理条件复杂。本研究对该制剂的质量标准进行了完善和提高,新增了红花和赤芍的TLC鉴别,对丹参、川芎TLC鉴别中展开剂进行了优选,并建立了高效液相色谱法(HPLC)对制剂中阿魏酸和丹参酮Ⅱ_A含量进行测定,使其质量可控性更强,检验标准更加全面、完善。

[△] 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81503280)

* 主管药师,硕士。研究方向:中药药理。电话:029-84775475-8204。E-mail:zhaochao7god@163.com

通信作者:副主任药师,博士。研究方向:中药制剂及药理。电话:029-84775475-8204。E-mail:187266749@qq.com

1 材料

1.1 仪器

LC-20AD型HPLC仪,包括二极管阵列检测器(日本岛津公司);R200D型十万分之一电子分析天平(德国Sartorius公司);RE-52A型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);DZKW-4型电子恒温水浴锅(上海科析实验仪器厂)。

1.2 药品与试剂

川参胶囊(由空军军医大学第一附属医院药品制剂科提供,批号:20170802、20170812、20170822,规格:0.4 g/粒);丹参酮II_A对照品(批号:0716-201511,纯度:>98%)、芍药苷对照品(批号:0718-201510,纯度:>98%)、阿魏酸对照品(批号:0749-201531,纯度:96.8%)、川芎对照药材(批号:120918-201512)、红花对照药材(批号:120907-201513)均由中国食品药品检定研究院提供;甲苯、乙醚、石油醚、甲酸、乙酸乙酯、正己烷、三氯甲烷等试剂均为分析纯,甲醇为色谱纯,水为实验室自制纯化水。

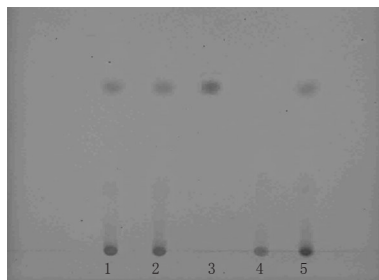
2 方法与结果

2.1 TLC鉴别

2.1.1 丹参 取本品内容物2 g,加乙醇40 mL,加热回流提取1 h,滤过,滤液挥干,残渣加乙酸乙酯1 mL使溶解,作为供试品溶液;另取丹参酮II_A对照品适量,加乙酸乙酯制成质量浓度为2 mg/mL的溶液,作为对照品溶液;按川参胶囊处方和制备工艺制备缺丹参的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成缺丹参阴性对照溶液。按2015年版《中国药典》(四部)RC法^[2]进行试验,吸取上述3种溶液各10 μL,分别点样于同一含羧甲基纤维素钠溶液为黏合剂的硅胶G薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯(19:1, V/V)为展开剂,展开,取出,晾干^[3]。结果,在日光下检视,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上显相同颜色的斑点,且阴性对照无干扰,TLC图见图1。

2.1.2 川芎 取本品内容物2 g,加乙醇40 mL,加热回流提取1 h,滤过,滤液挥干,残渣加乙酸乙酯1 mL使溶解,作为供试品溶液;另取川芎对照药材0.5 g,加乙醚20 mL,加热回流提取20 min,滤过,滤液挥干,残渣加乙酸乙酯1 mL使溶解,作为对照药材溶液;按川参胶囊处方和制备工艺制备缺川芎的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成缺川芎阴性对照溶液。根据2015年版《中国药典》(四部)TLC法^[2]进行试验,吸取上述3种溶液各10 μL,分别点样于同一含羧甲基纤维素钠溶液为黏合剂的硅胶G薄层板上,以正己烷-乙酸乙酯(3:1, V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置于紫外光灯(波长为254 nm)下检视^[4]。结果,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荧光斑点,且阴性对照无干扰,TLC图见图2。

2.1.3 红花 取本品内容物2 g,加80%丙酮溶液5 mL,

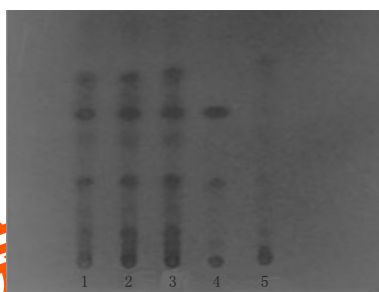


注:1、2、5.供试品(批号分别为20170802、20170812、20170822);3.丹参酮II_A对照品;4.缺丹参阴性对照样品

Note: 1, 2, 5. test samples (batch numbers of 20170802, 20170812, 20170822, respectively); 3. tanshinone II_A control sample; 4. negative control sample lack of *S. miltiorrhizae*

图1 川参胶囊中丹参的TLC图

Fig 1 TLC chromatogram of *S. miltiorrhizae* in Chuan-shen capsule



注:1~3.供试品(批号分别为20170802、20170812、20170822);4.川芎对照药材;5.缺川芎阴性对照样品

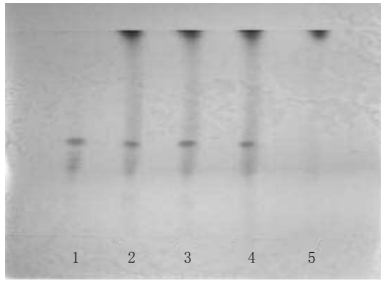
Note: 1-3. test samples (batch numbers of 20170802, 20170812, 20170822, respectively); 4. *C. rhizome* control medicines; 5. negative control sample lack of *C. rhizome*

图2 川参胶囊中川芎的TLC图

Fig 2 TLC chromatogram of *C. rhizome* in Chuan-shen capsule

密塞,振摇15 min,静置,取上清液作为供试品溶液;另取红花对照药材0.5 g,加乙醚20 mL,加热回流提取20 min,滤过,滤液挥干,残渣加乙酸乙酯1 mL使溶解,作为对照药材溶液;按川参胶囊处方和制备工艺制备缺红花的阴性样品,按供试品溶液制备方法制成缺红花阴性对照溶液。参照2015年版《中国药典》(四部)TLC法^[2]进行试验,吸取上述3种溶液各5 μL,分别点样于同一硅胶H薄层板上,以乙酸乙酯-甲酸-水-甲醇(7:2:3:0.4, V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干^[5]。结果,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,且阴性对照无干扰,TLC图见图3。

2.1.4 赤芍 取本品内容物2 g,加乙醇30 mL,超声(功率为250 W,频率为40 kHz)处理30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加乙醇1 mL使溶解,然后以3 000 r/min离心10 min,取上清液作为供试品溶液;另取芍药苷对照品,加甲醇制成质量浓度为2 mg/mL的溶液,作为对照品溶液;按川参胶囊处方和制备工艺制备缺赤芍的阴性样



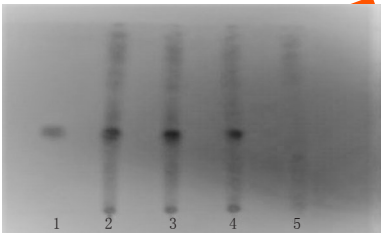
注:1.红花对照药材;2~4.供试品(批号分别为20170802、20170812、20170822);5.缺红花阴性对照样品

Note:1.*C. flos* control materials;2-4.test samples(batch numbers of 20170802, 20170812, 20170822, respectively);5.negative control sample lack of *C. flos*

图3 川参胶囊中红花的TLC图

Fig 3 TLC chromatogram of *C. flos* in Chuanshen capsule

品,按供试品溶液制备方法制成缺赤芍阴性对照溶液。参照2015年版《中国药典》(四部)TLC法^[2]进行试验,吸取上述3种溶液各10 μL,分别点样于同一硅胶G薄层板上,以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(40:5:10:0.2, V/V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干^[6]。喷以5%香草醛硫酸溶液,热风吹至斑点清晰。结果,供试品色谱中,在与对照品相应的色谱位置上显相同颜色的斑点,且阴性对照无干扰,TLC图见图4。



注:1.芍药苷对照品;2~4.供试品(批号分别为20170802、20170812、20170822);5.缺赤芍阴性对照样品

Note:1.paeoniin control;2-4.test samples(batches of 20170802, 20170812, 20170822, respectively);5.negative control sample lack of *Paonia radix rubra*

图4 川参胶囊中赤芍的TLC图

Fig 4 TLC chromatogram of *Paonia radix rubra* in Chuanshen capsule

2.2 HPLC法测定川参胶囊中阿魏酸的含量

2.2.1 色谱条件 色谱柱:Kromasil C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-1%醋酸溶液(30:70, V/V);检测波长:321 nm;流速:1.2 mL/min;柱温:40 ℃;进样量:10 μL。

2.2.2 溶液的制备 (1)对照品溶液:称取阿魏酸对照品5.60 mg,置于10 mL棕色量瓶中,加1%冰醋酸甲醇溶液至刻度,得质量浓度为0.56 mg/mL的对照品溶液。(2)供试品溶液:取20粒胶囊的内容物(批号:20170802),混匀,取2 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入

1%冰醋酸甲醇溶液50 mL,密塞,称定质量,加热回流提取30 min,放冷,再次精密称定质量,用1%冰醋酸-甲醇溶液补足减失的质量,摇匀,静置,取上清液,过0.45 μm滤膜,取续滤液,即得。(3)阴性对照溶液:按照川参胶囊处方比例和方法制备不含川芎的阴性样品,精密称取内容物2 g,按供试品溶液的制备方法制备阴性对照溶液。

2.2.3 专属性试验 取“2.2.2”项下3种溶液各10 μL,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果表明,供试品溶液与对照品溶液主峰的保留时间基本一致,阿魏酸与相邻峰分离良好($R=2.35$),且阴性对照在对应的时间点没有出峰,表明该方法专属性较好,色谱图见图5。

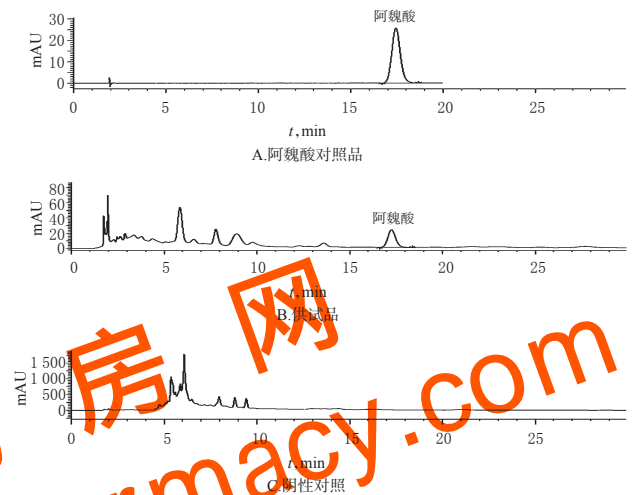


图5 川参胶囊中阿魏酸检测的HPLC图
Fig 5 HPLC chromatograms of ferulic acid in Chuanshen capsule

2.2.4 标准曲线的绘制 精密吸取质量浓度为0.56 mg/mL的阿魏酸对照品溶液0.08、0.20、0.30、0.50、1.0、2.00 mL,置于不同10 mL量瓶中,加70%甲醇至刻度,作为系列对照品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定。以峰面积为纵坐标(y)、阿魏酸质量浓度为横坐标(x)进行线性回归,得回归方程为 $y=54\ 839x-86\ 096$ ($R^2=0.999\ 0, n=6$)。结果表明,阿魏酸在质量浓度为4.48~112.00 μg/mL范围内与峰面积的线性关系良好。

2.2.5 稳定性试验 取本品1份(批号:20170802),按“2.2.2(2)”项下方法制成供试品溶液,分别于室温下放置0、1、2、4、8、12 h,然后按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果显示,峰面积的RSD为0.16% ($n=6$),表明供试品溶液在室温条件下放置12 h基本稳定。

2.2.6 精密度试验 取本品1份(批号:20170802),按“2.2.2(2)”项下方法制成供试品溶液,按“2.2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果显示,峰面积的RSD为0.27% ($n=6$),表明仪器的精密度良好。

2.2.7 重复性试验 精密称取同一批样品(批号:

20170802)适量,按“2.2.2(2)”项下方法制成供试品溶液,共6份,按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算含量。结果显示,阿魏酸含量分别为0.119 5、0.119 6、0.119 8、0.119 4、0.119 6、0.119 7 mg/粒,平均含量为0.119 6 mg/粒,含量的RSD为0.12%($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.2.8 加样回收试验 取已知含量的样品2 g(批号:20170802),共6份,分别加入阿魏酸对照品溶液(质量浓度为0.28 mg/mL)5 mL,按“2.2.2(2)”项下方法制成供试品溶液,然后分别按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,平均回收率为102.22%,RSD为1.63%($n=6$),表明本方法准确度较好,结果见表1。

表1 阿魏酸测定的回收率结果($n=6$)

Tab 1 Results of recovery of ferulic acid ($n=6$)

序号	取样量,g	样品含量,mg	加入量,mg	实际测得总量,mg	回收率,%		
					计算值	平均值	RSD
1	1.097 6	0.325 0	0.300 0	0.628 8	101.27	102.22	1.63
2	1.008 5	0.298 6	0.300 0	0.608 7	103.37		
3	1.003 4	0.297 1	0.300 0	0.609 3	104.07		
4	1.003 5	0.297 1	0.300 0	0.608 1	103.66		
5	1.015 8	0.300 8	0.300 0	0.601 3	100.18		
6	1.014 2	0.300 3	0.300 0	0.602 6	100.77		

2.2.9 样品含量测定 取3个批次样品,按“2.2.2(2)”项下方法制成供试品溶液后按“2.2.1”项下色谱条件进样测定,连续平行测定3份,取平均值。结果,3批样品中阿魏酸平均含量为0.118 4 mg/粒。2015年版《中国药典》(一部)规定^[7],川芎药材中的阿魏酸($C_{10}H_{10}O_4$)含量限度不得少于0.1%,考虑到大生产中投料及生产工艺中各因素的影响,结合3批样品含量结果,暂将含量限度定为:本品阿魏酸($C_{10}H_{10}O_4$)的含量应不低于0.10 mg/粒,结果见表2。

表2 样品中阿魏酸含量测定结果($n=3, 0.40$ g/粒)

Tab 2 Content determination of ferulic acid in samples ($n=3, 0.40$ g/capsule)

样品批号	含量,mg/粒	RSD,%
20170802	0.118 2	0.96
20170812	0.119 6	1.02
20170822	0.117 5	1.55
平均	0.118 4	1.18

2.3 HPLC法测定川参胶囊中丹参酮II_A的含量

2.3.1 色谱条件 色谱柱:Kromasil C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇-水溶液(85:15, V/V);检测波长:270 nm;流速:1.2 mL/min;柱温:25 ℃;进样量:20 μL。

2.3.2 溶液的制备 (1)丹参酮II_A对照品溶液:称取丹参酮II_A对照品8.40 mg,置于20 mL量瓶中,加甲醇至刻度,得质量浓度为0.42 mg/mL的对照品溶液。(2)供试品溶液:取20粒胶囊的内容物,混匀,取2.5 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,精密加入甲醇溶液50 mL,密塞,称定质量,加热回流提取1 h,放冷,再次精密称定质量,用

甲醇溶液补足减失的质量,摇匀,静置,取上清液,过0.45 μm滤膜,取续滤液,即得。(3)阴性对照溶液:按照川参胶囊处方比例和方法制备不含丹参的阴性样品,精密称取阴性样品内容物2.5 g,按“2.3.2(2)”项下方法制成溶液,即得。

2.3.3 专属性试验 取“2.3.2”项下3种测定溶液各20 μL,按“2.3.1”项下色谱条件进样分析,记录色谱图。结果表明,供试品溶液与对照品溶液主峰的保留时间基本一致,丹参酮II_A与相邻峰分离良好($R=2.5$),且阴性对照在对应的时间点没有出峰,表明该方法专属性较好,色谱图见图6。

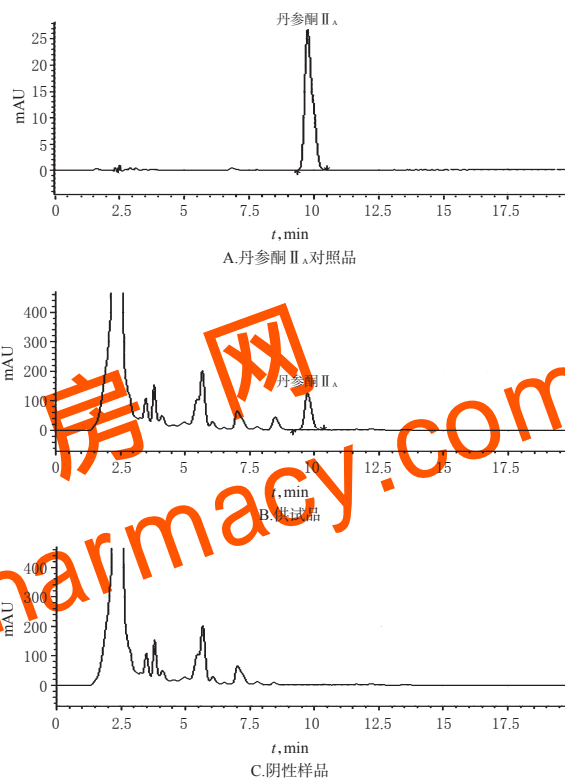


图6 川参胶囊中丹参酮II_A检测的HPLC图

Fig 6 HPLC chromatograms of tanshinone II_A determination in Chuanshen capsule

2.3.4 标准曲线的绘制 分别精密量取丹参酮II_A对照品溶液0.14、0.22、0.50、1.00、2.00、5.00 mL,置于10 mL量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,得到质量浓度分别为5.88、9.24、21.00、42.00、84.00、210.00 μg/mL的系列对照品溶液,按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,以峰面积为纵坐标(y)、丹参酮II_A质量浓度为横坐标(x)进行线性回归,得回归方程为 $y=96\ 645x-59\ 446$ ($R^2=0.999\ 9$, $n=6$)。结果表明,丹参酮II_A在质量浓度为5.88~210.00 μg/mL范围内与峰面积的线性关系良好。

2.3.5 稳定性试验 取本品1份(批号:20170802),按“2.3.2(2)”项下方法制成供试品溶液,分别于室温下放置0、1、2、4、8、12 h,然后按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,并记录峰面积。结果,丹参酮II_A峰面积的RSD为

0.65% ($n=6$),表明供试品溶液在室温条件下放置 12 h 基本稳定。

2.3.6 精密度的试验 取本品 1 份(批号:20170802),按“2.3.2(2)”项下方法制成供试品溶液,然后按“2.3.1”项下色谱条件连续进样测定 6 次,记录峰面积。结果,峰面积的 RSD 为 0.75% ($n=6$),表明仪器的精密性良好。

2.3.7 重复性试验 精密称取同一批样品(批号:20170802)适量,按“2.3.2(2)”项下方法制成供试品溶液,共 6 份,分别按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积并计算含量。结果显示,丹参酮 II_A 的含量分别为 0.246、0.243、0.245、0.242、0.241、0.245 mg/粒,平均含量为 0.244 mg/粒,含量的 RSD 为 0.81% ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.3.8 加样回收试验 取已知含量的样品内容物 2 g (批号:20170802),共 6 份,分别加入丹参酮 II_A 对照品溶液(质量浓度为 2.05 mg/mL)1 mL,按“2.3.2(2)”项下方法制成供试品溶液,然后按照“2.3.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱图。结果,丹参酮 II_A 的平均回收率为 102.23%,RSD 为 1.22% ($n=6$),表明本方法准确度较好,结果见表 3。

表 3 丹参酮 II_A 测定的回收率结果 ($n=6$)

Tab 3 Results of recovery of tanshinone II_A ($n=6$)

序号	取样量/g	样品含量/mg	加入量/mg	实际测得总量/mg	加样回收率/%		
					计算值	平均值	RSD
1	1.005 1	0.555 3	0.550 0	1.128 0	104.12	102.23	1.22
2	1.036 4	0.572 6	0.550 0	1.138 0	103.80		
3	1.002 8	0.554 0	0.550 0	1.118 0	102.54		
4	1.038 5	0.573 8	0.550 0	1.127 0	100.59		
5	1.014 2	0.560 3	0.550 0	1.117 0	101.21		
6	1.023 3	0.565 4	0.550 0	1.128 0	102.30		

2.3.9 样品含量测定 取 3 个批次样品,按供试品溶液制备方法制备成供试品溶液,然后按“2.3.1”项下色谱条件进样测定,每个样品连续平行测定 3 份,取平均值。结果,3 批样品中丹参酮 II_A 的平均含量为 0.221 mg/粒,考虑到中药材原料产地的不定性及丹参酮 II_A 本身的理化特性,将平均含量下调至测定量的 80%,即 0.176 8 mg/粒,故暂定川参胶囊中丹参酮 II_A (C₁₉H₁₈O₃) 含量限度应不低于 0.18 mg/粒,结果见表 4。

表 4 样品中丹参酮 II_A 含量测定结果 ($n=3, 0.40$ g/粒)

Tab 4 Results of content determination of tanshinone II_A in samples ($n=3, 0.40$ g/capsule)

样品批号	含量/mg/粒	RSD, %
20170802	0.244	0.93
20170812	0.209	0.98
20170822	0.209	1.22
平均	0.221	1.04

3 讨论

川参胶囊处方中的丹参、川芎活血化瘀,行气止痛共为君药;红花活血通经、祛瘀止痛,赤芍清热凉血,山楂消食积、化瘀滞,共为臣药;菊花疏风热、清头目,为佐

药;甘草为使,调和诸药,共同起到活血化瘀、行气止痛之功。

在川芎 TLC 试验中,笔者分别对甲苯-乙酸乙酯(19:1, V/V)、正己烷-乙酸乙酯(3:1, V/V)、乙醚-乙酸乙酯-甲酸(10:50:1, V/V/V)等展开剂进行了筛选,结果正己烷-乙酸乙酯(3:1, V/V)为展开剂时色谱斑点分离度更好,斑点更清晰,并且正己烷比甲苯毒性较低,故选择正己烷-乙酸乙酯(3:1, V/V)为川芎鉴别的展开剂。在赤芍 TLC 试验中,笔者分别对三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(40:5:10:0.2, V/V/V/V)和乙酸乙酯-甲酸-冰醋酸-水(15:1:1:2, V/V/V/V)展开剂进行了筛选。结果显示,以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(40:5:10:0.2, V/V/V/V)为展开剂时,色谱斑点重叠分离度更好、斑点更清晰,故以此为赤芍鉴别的展开剂。此外,笔者在研究中还发现菊花进行了 TLC 鉴别,虽然发现供试品色谱中,在与菊花对照药材色谱相应的位置上显相同颜色的斑点,但阴性对照有干扰,经过多次试验后没有找到较好的 TLC 条件,所以未能将菊花的 TLC 鉴别方法列入标准中。

川芎和丹参在处方中用量最大,均具有活血行气、祛风止痛的功效,为活血化瘀常用的中药,其主要活性成分分别为阿魏酸和丹参酮 II_A。药理学研究表明,阿魏酸具有抗血小板聚集、抑制血小板 5-羟色胺释放、抑制血小板血栓素 A₂ 的生成、增强前列腺素活性以及镇痛、缓解血管痉挛等作用;丹参酮 II_A 能增加冠脉血流量、改善缺氧后引起的心肌代谢紊乱,可提高心肌耐缺氧的能力、抑制血小板聚集及抗血栓形成、减轻缺氧引起的心肌损伤、改善心肌收缩力、促进心肌再生。HPLC 法灵敏度高、专属性好,是目前含量测定的理想方法,因此本研究在参考 2015 年版《中国药典》及相关文献^[7-10]基础上建立了本品中阿魏酸和丹参酮 II_A 含量测定的 HPLC 法。由于阿魏酸分子结构中含有羧丙烯基和酚羟基,见光易发生氧化反应和构型改变,故在制备阿魏酸对照品溶液时选择了使用棕色瓶^[11]。又由于阿魏酸有两种异构体,且顺、反异构体可互相转换,而加入少量冰醋酸可抑制反式阿魏酸向顺式转换^[12]。因此,笔者将 1% 冰醋酸-甲醇溶液作为阿魏酸的溶剂。在柱温的考察中,取相同供试品溶液,固定色谱柱、pH 及流动相等其他条件不变,改变柱温(25、35、40 ℃),结果发现,柱温在 40 ℃ 时分离度更好、拖尾改善、保留时间合适,故阿魏酸检测的柱温定为 40 ℃。

综上所述,笔者在川参胶囊原质量标准基础上增加了红花和赤芍的 TLC 鉴别,简化了丹参和川芎 TLC 鉴别的样品处理条件,采用 HPLC 法测定了制剂中阿魏酸和丹参酮 II_A 的含量,能够有效地提高川参胶囊质量控制标准。

参考文献

[1] 谢艳华,王四旺,孙纪元,等.川参胶囊对结扎大鼠冠状动脉所致心肌缺血的影响[J].中西医结合心脑血管病杂

HPLC-DAD法同时测定肝康复水丸剂中7个成分的含量^Δ

侯玉华^{1*},袁 龙¹,赵功宝¹,黄培池¹,杨 慧¹,曹 媛¹,张 洪²(1.江苏省徐州医药高等职业学校药学技术系,江苏徐州 221116;2.中国矿业大学化工学院,江苏徐州 221000)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)21-2907-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.21.07

摘要 目的:建立同时测定肝康复水丸剂中没食子酸、栀子苷、芍药内酯苷、芍药苷、丹酚酸B、丹皮酚和丹参酮Ⅱ_A含量的方法。方法:采用高效液相色谱(HPLC)法,以二极管阵列检测器(DAD),色谱柱为Agilent ZORBAX SB-C₁₈;流动相A为乙腈,流动相B为0.1%磷酸溶液,梯度洗脱;流速为1.0 mL/min;检测波长为267 nm(没食子酸)、235 nm(栀子苷、芍药内酯苷、芍药苷)、286 nm(丹酚酸B)、274 nm(丹皮酚)、270 nm(丹参酮Ⅱ_A);柱温为30 ℃;进样量为10 μL。结果:没食子酸、栀子苷、芍药内酯苷、芍药苷、丹酚酸B、丹皮酚、丹参酮Ⅱ_A检测质量浓度的线性范围分别为4.09~51.17 μg/mL($r=0.999\ 5$)、8.35~104.35 μg/mL($r=0.999\ 1$)、7.78~97.25 μg/mL($r=0.999\ 9$)、7.56~94.54 μg/mL($r=0.999\ 3$)、16.70~208.80 μg/mL($r=0.999\ 5$)、3.46~43.20 μg/mL($r=0.999\ 7$)、23.13~289.10 μg/mL($r=0.999\ 9$),检测限分别为0.09、0.15、0.13、0.12、0.16、0.04、0.24 μg/mL,定量限分别为0.26、0.52、0.48、0.47、0.88、0.18、0.98 μg/mL,平均回收率分别为91.83%、96.11%、96.83%、95.82%、96.93%、93.95%、94.79%($n=6$),精密密度试验的RSD均≤1.00%($n=6$),供试品溶液48 h内稳定性试验的RSD均≤0.96%($n=6$),重复性试验的RSD均≤0.99%($n=6$)。结论:本方法准确、可靠,可用于肝康复水丸剂中上述7个成分的含量测定。

关键词 高效液相色谱法;二极管阵列检测器;肝康复水丸剂;没食子酸;栀子苷;芍药内酯苷;芍药苷;丹酚酸B;丹皮酚;丹参酮Ⅱ_A;含量测定

Simultaneous Determination of Seven Components in Gankangfu Water Pill by HPLC-DAD

HOU Yuhua¹, YUAN Long¹, ZHAO Gongbao¹, HUANG Peichi¹, YANG Hui¹, CAO Yuan¹, ZHANG Hong²(1. Dept. of Pharmaceutical Technology, Xuzhou Medical Vocational School, Jiangsu Xuzhou 221116, China; 2. School of Chemistry, China University of Mining and Technology, Jiangsu Xuzhou 221000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of the contents of gallic acid, jasminoidin, albiflorin, paeoniflorin, danshinolic acid B, paeonol and tanshinone II_A in Gankangfu water pill. METHODS: HPLC method with DAD was adopted. The determination was performed on Agilent ZORBAX SB-C₁₈ column with mobile phase A consisted of acetonitrile and mobile phase B consisted of 0.1% phosphate solution (gradient elution) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelengths were set at 267 nm (gallic acid), 235 nm (jasminoidin, albiflorin, paeoniflorin), 286 nm (danshinolic acid B), 274 nm (paeonol) and 270 nm (tanshinone II_A). The column temperature was set at 30 ℃ and sample size was 10 μL.

- 志,2007,5(9):842-844.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:57-59.
- [3] 吴笛,王德勤,李楚源.复方丹参片薄层色谱鉴别方法研究[J].药物分析杂志,2012,32(9):1658-1660.
- [4] 孔菲,丁莹,梁雪,等.川芎、当归的薄层层析鉴别[J].中医学报,2013,41(2):56-57.
- [5] 李清林,尹华,谢斌,等.补肾活血颗粒中红花、附子和甘草的薄层鉴别研究[J].中华中医药学刊,2013,31(4):817-818.
- [6] 李清娟,容彦华,陈素锐,等.养阴清肺颗粒中芍药苷与玄参的同板薄层色谱鉴别[J].中国药师,2014,17(2):335-336.
- [7] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:40-41、76-77、158-159.
- [8] 傅晓燕,黄巧玲.HPLC与UPLC法对比测定两种川芎药材中阿魏酸的含量[J].中药材,2011,33(7):1070-1072.
- [9] 王妙闻,张艺,张静,等.HPLC测定川芎中的总阿魏酸[J].华西药学杂志,2008,23(1):100-102.
- [10] 刘金环,杨玉琴,张强,等.降黏胶囊质量标准研究[J].中医学报,2013,28(10):1525-1527.
- [11] 吕光华,程世琼,陈金泉,等.HPLC测定川芎药材和饮片中游离阿魏酸和总阿魏酸的含量及其质量评价指标[J].中国中药杂志,2010,35(2):194-198.
- [12] 刘旺培,黄义纯,陈华龙.HPLC法测定天王补心丸中阿魏酸的含量[J].中国药房,2015,26(21):3003-3005.

Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.U1510106);徐州市科技计划项目(No.KH7028)

* 教授。研究方向:中药制剂质量标准及新药研发。电话:0516-82559039。E-mail:houyuhua02@126.com

(收稿日期:2018-05-25 修回日期:2018-09-05)

(编辑:林 静)