

玄丹巴布剂质量标准研究

孟舒¹, 陈再兴², 姜泓², 杨丹¹, 刘丹华¹ (辽宁省计划生育科学研究院, 沈阳 110031; 2. 中国医科大学药学院, 沈阳 110002)

摘要:目的 研究玄丹巴布剂的质量控制标准。方法 采用薄层色谱法对制剂中淫羊藿、三七、鸡血藤、延胡索进行定性鉴别,并用高效液相色谱法对制剂中的主药丹参进行含量测定。结果 丹参素钠在 0.296 ~ 1.480 μg 之间成良好的线性关系。平均回收率为 96.9%。结论 该法灵敏、简便、准确和重复性好,可作为该制剂的质量控制标准。

关键词:玄丹巴布剂; 质量标准; 高效液相色谱法; 丹参素钠

中图分类号: R289 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2007)05-0394-03

Studies on Standard for Quality Control of Xuandan Cataplastm

MENG Shu¹, CHEN Zai-xing², JIANG Hong², YANG Dan¹, LIU Dan-hua¹ (1. Liaoning Institute of Planning Family, Shenyang 110031, China; 2. China Medical University, Shengyang 110002, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the standard for the quality control of Xuandan cataplastm. **METHODS** The presence of Epimedium brevicornum Maxim, Radix Notoginseng, Caulis Spatholobi and Rhizoma were identified by TLC. The content of Danshensu, the main active principle in the cataplastm was assayed by HPLC. **RESULTS** Linearity was found in the range of 0.296 ~ 1.480 μg . The average recovery is 96.9% and RSD = 1.3%. **CONCLUSION** The method was found to be highly sensitive, simple, precise and reproducible and may be used for the quality control of the cataplastm.

KEY WORDS: Xuandan cataplastm; quality control standard; HPLC; Danshensu

玄丹巴布剂为我院研制的一种中药新药,由淫羊藿、丹参、三七、元胡、鸡血藤、土鳖虫、海藻等几味中药组成,具有疏肝理气、活血通络、消肿止痛的作用。该制剂在我院附属医院进行了临床观察,证明对女性内分泌紊乱导致的乳腺增生有很好的疗效。为了控制该产品的质量,保证临床用药效果,笔者对玄丹巴布剂的质量标准进行了研究。根据处方中各药材的理化性质,采用薄层色谱法对制剂中的淫羊藿、三七、元胡、鸡血藤进行了定性鉴别,同时采用 HPLC 对该制剂丹参中的丹参素钠进行定量研究。方法简便易行,排除其他成分的干扰,结果满意,可作为控制该制剂质量的方法。

1 仪器与试药

lambdaBio20 紫外-可见分光光度计(美国 PE),CSF-1A 超声波发生器(上海超声波仪器厂)。Waters 高效液相色谱仪(美国),微量毛细管。玄丹巴布剂由辽宁省计划生育科学研究院生产。淫羊藿苷(110737-200312),延胡索乙素(0781-20008),丹参素钠(110855-200506),由中国药品生物制品检定所提供。水为重蒸馏水,甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 薄层鉴别

2.1 三七的鉴别

取本品 2 片,剪碎,加 50% 乙醇 150 mL,超声提取 0.5 h,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加水 10 mL 使溶解,转移至分液漏斗中,用水饱和的正丁醇提取 3 次,每次 20 mL,合并正丁

醇提取液,用氨试液洗涤 2 次,每次 20 mL,弃去氨溶液,再用正丁醇饱和的水洗涤 2 次,每次 25 mL,正丁醇液蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取三七对照药材粉末 0.5 g,加水约 5 滴,搅匀,再加水饱和的正丁醇 5 mL,密塞,振摇约 10 min,放置 2 h,离心,取上清液,加 3 倍量以正丁醇饱和的水,摇匀,离心使分层,取正丁醇层,置蒸发皿中,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为对照药材溶液。再取缺三七的样品同法制成阴性样品溶液照薄层色谱法试验,吸取供试品溶液、阴性液各 5 μL 、对照药材溶液 2 μL ,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以氯仿-乙酸乙酯-甲醇-水(15:40:22:10)10 $^{\circ}\text{C}$ 以下放置分层的下层溶液为展开剂,展开,取出,晾干,喷以硫酸乙醇溶液(1 $\rightarrow$ 10),105 $^{\circ}\text{C}$ 加热至斑点显色清晰。供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,日光下显相同颜色的斑点。见图 1。

2.2 淫羊藿的鉴别

取本品 2 片,剪碎,加 50% 乙醇 150 mL 超声提取 0.5 h,放冷,滤过,滤液蒸干,残渣加氨试液 10 mL 使溶解,转移至分液漏斗中,用乙酸乙酯萃取 2 次,每次 25 mL,合并提取液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 溶解,作为供试品溶液。另取淫羊藿苷对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 溶液,作为对照品溶液,再取缺淫羊藿的样品同法制成阴性样品溶液。照薄层色谱法(附录 VI B)试验,吸取上述三种溶液各 5 μL ,分别点于同一以硅胶 H 薄层板上,以丁酮-氯仿-甲醇-甲酸-水(6:6:4:

基金项目:辽宁省科技厅科技攻关(2004225003)

作者简介:孟舒,女,博士,副研究员 Tel: (024)86800665 E-mail: mengshu888@sina.com

1.5:1)为展开剂,展开,取出,晾干,日光下检视,供试品色谱中,在与对照品色谱相应的位置上,显相同的暗黄色的斑点。见图2。



图1 三七

1. 供试品; 2. 对照药材; 3. 阴性液

Fig 1 Radix. Notoginseng

1. sample; 2. reference herb; 3. negative sample



图2 淫羊藿

1. 供试品; 2. 淫羊藿苷; 3. 阴性液

Fig 2 Epimedium brevicornum

1. sample; 2. icarrine; 3. negative sample

2.3 延胡索的鉴别

取本品2片,加甲醇100 mL超声处理30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水溶解,加浓氨试液调至pH 10,用乙醚提取3次,每次20 mL,合并乙醚液,蒸干,残渣加甲醇1 mL使溶解,作为供试品溶液。另取延胡索对照药材1 g,同法制成对照药材溶液。另取延胡索乙素对照品,加甲醇制成每1 mL含1 mg的溶液,作为对照品溶液。再取缺延胡索的样品同法制成阴性样品溶液照薄层色谱法试验,吸取上述三种溶液各5 μ L,分别点于同一用1%氢氧化钠制备的硅胶G薄层板上,以甲苯-丙酮(9:1.5)为展开剂,置以展开剂预饱和的展开缸内,展开,取出,晾干,以碘蒸气熏3 min,挥尽板上吸附的碘后,置紫外光灯(365 nm)下检视,供试品色谱中,在与对照药材和对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。见图3。

2.4 鸡血藤的鉴别

取本品2片,加乙酸乙酯150 mL加热回流1 h,过滤,滤液蒸干,加2 mL甲醇溶解。另取鸡血藤对照药材同上处理作为对照溶液,再取缺鸡血藤的样品同法制成阴性样品溶液。照薄层色谱法试验,吸取上述三种溶液各5 μ L,分别点于同一硅胶G薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯-甲醇-甲酸(6:4:1:1)为展开剂,置以展开剂预饱和的展开缸内,展开,取出,晾干,置紫外光灯(365 nm)下检视,供试品色谱中,在与对照药材色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点。见图4。

3 含量测定

3.1 色谱条件

色谱柱 Nucleosil-100 C₁₈ 柱(4.6 mm $\times$ 200 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-0.5%冰醋酸(4:96); 流速: 1 mL $\cdot$ min⁻¹; 柱温: 25 $^{\circ}$ C; 检测波长: 280 nm。

3.2 对照品溶液的制备

精密称取减压至恒重的丹参素钠对照品适量,加50%甲



图3 延胡索

1. 对照药材; 2. 延胡索乙素; 3. 供试品; 4. 阴性液

Fig 3 Caulis Spatholobi

1. reference herb; 2. tetrahydropalmitine; 3. sample; 4. negative sample



图4 鸡血藤

1. 对照药材; 2. 供试品; 3. 阴性液

Fig 4 Rhizoma

1. reference herb; 2. sample; 3. negative sample

醇溶解制成每1 mL含148 μ g溶液,作为对照品溶液。

3.3 供试品溶液的制备

取本品3片,剪成小条,揭去薄膜,精密称取2.5 g,置具塞锥形瓶中,精密加入50%乙醇40 mL,密塞,称定重量,超声提取1 h,放冷,再称定重量,加50%乙醇补足减失重量,取上清液,滤过,弃去初滤液,收集续滤液,经微孔滤膜过滤器(0.45 μ m)过滤,作为供试品溶液。

3.4 空白试验

按处方组成,取除丹参外的其余药味,按工艺要求制成缺丹参的阴性对照液。按上述色谱条件测定,结果在丹参素钠峰出现的位置上无对应峰出现,表明其他组分对测定无干扰。

3.5 标准曲线及线性范围

分别精密吸取对照品溶液2.0,4.0,6.0,8.0,10.0 μ L按上述色谱条件测定峰面积,以峰面积积分为纵坐标,丹参素钠进样量为横坐标,数据由计算机处理回归方程为 $Y = 452104.7X - 7378.8$, $r = 0.9997$ 。表明丹参素钠的进样量在0.296 ~ 1.480 μ g与峰面积成良好的线性关系。

3.6 精密度试验

精密吸取供试品溶液10 μ L,连续进样5次,测定丹参素钠峰面积,其RSD为0.98% ($n = 5$)。

3.7 重复性试验

取同一批号的样品5份,按含量测定项下的方法测定,结果丹参素钠平均含量为1.037 mg $\cdot$ g⁻¹, RSD为1.9%。

3.8 稳定性试验

取供试品溶液,间隔1 h进样一次,每次10 μ L,结果丹参素钠峰面积平均为322564, RSD为2.3%。

3.9 加样回收率试验

精密称取揭去薄膜的巴布剂2.5 g,分别加入丹参素钠对照品溶液一定量,按“3.3”项下方法制备加样回收供试液,并进行含量测定,结果见表1。

表 1 加样回收率测定结果

Tab 1 Determination results of the recovery for the samples

样品含量 /mg	对照品加 入量/mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回 收率/%	RSD /%
2.422		4.757	98.61		
2.438		4.744	97.38		
2.645	2.368	4.924	96.24	96.9	1.3
2.576		4.832	95.27		
2.695		4.997	97.21		

3.10 样品测定

分别精密吸取对照品溶液 5 μL 与供试品溶液各 20 μL , 注入高效液相色谱仪中, 测定其中丹参素钠的色谱峰面积, 以外标法计算丹参素钠的含量。结果 3 批玄丹巴布剂中丹参素钠的含量分别为 0.957 mg, 1.043 mg 和 1.084 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ($n=3$)。

4 讨论

4.1 在鸡血藤的薄层色谱鉴别中选择许多展开剂系统, 展开, 效果均不理想, 参照文中提供的展开剂系统, 展开, 斑点清晰。

4.2 丹参素钠测定笔者采用超声波提取法, 以乙醇、50% 乙醇、水为溶媒进行考察结果表明水的提取效率最高, 但杂质较多, 不宜过滤, 所以选择 50% 乙醇能够有效将丹参素钠提取出来。采用 HPLC 进行含量测定具有操作简单, 杂质干扰少, 重复性好的特点。

REFERENCES

[1] Ch. P(2005) Vol I (中国药典 2005 年版. 一部)[S]. 2005: 10.

[2] MIAO M S, LI Z G. The Quality Control Technique of Modern Chinese Herb [M]. Beijing: The People's Medical Publishing House, 2000: 971.

收稿日期: 2006-11-12