

抗栓胶囊质量标准研究

李冬梅, 刘永利, 赵艳普, 冯丽 (河北省药品检验所, 石家庄 050011)

摘要: 目的 建立抗栓胶囊质量标准。方法 用薄层色谱法对当归尾、延胡索、丹参、甘草进行了定性鉴别; 用 HPLC 对毒性药马钱子中主要成分士的宁进行了含量测定。结果 定性鉴别斑点圆整, 分离度好, 易于鉴别; 含量测定平均加样回收率为 98.8%, RSD 为 0.85%。结论 方法简便、准确, 专属性强, 可用于抗栓胶囊的质量控制。

作者简介: 李冬梅, 女, 主管药师 Tel: (0311)85212008 E-mail: lidongmei1975@126.com

关键词: 抗栓胶囊; 士的宁; 高效液相色谱法; 薄层色谱法

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2010)05-0425-05

Studies on Quality of Kangshuan Capslues

LI Dongmei, LIU Yongli, ZHAO Yanpu, FENG Li (Hebei Provincial Institute for Drug Control, Shijiazhuang 050011, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for the quality control of Kangshuan capsulues. **METHODS** *Radix angelicae sinensis*, *Rhizoma corydalis*, *Salvia miltiorrhiza* Bge and *Radix glycyrrhizae* were identified by TLC. The content of strychnine was determined by HPLC. **RESULTS** The studies on the quality control showed that the characteristics for identification by TLC were distinct and the spots can be determined. The average recovery of the added sample was 98.8% and RSD was 0.85%. **CONCLUSION** These methods are simple, accurate and can be used for the quality control of Kangshuan capsulues.

KEY WORDS: Kangshuan capsulues; strychnine; HPLC; TLC

抗栓胶囊是由当归尾、丹参、水蛭、土鳖虫、甘草、麝香、马钱子(制)、延胡索等 19 味中药组成的复方制剂,有活血化瘀,抗栓通脉之功效,主要用于血栓闭塞性脉管炎瘀血阻络证的治疗。其质量标准收载于《卫生部药品标准》中药成方制剂第 17 册,仅有一项显微鉴别,为更好地保证药品质量,笔者对质量标准进行了提高,利用薄层色谱法对当归尾、延胡索和甘草进行了鉴别,以士的宁为指标对毒剧药马钱子的含量进行了控制。

1 仪器与试药

高效液相色谱仪(Shimadzu LC 2010);电子天平(Mettler AE163);硅胶 G 薄层板(青岛海洋化工厂,批号:20080728);当归尾、丹参、甘草对照药材、延胡索乙素、丹参酮 II_A 及士的宁对照品均由中国药品生物制品检定所提供,批号分别为:121054-200505、120923-200610、120904-200511、110726-200610、110766-200518、110705-200306,纯度均为 100%;乙腈为色谱纯,水为去离子水,其他试剂均为分析纯。样品抗栓胶囊由秦皇岛皇威制药有限公司提供,阴性自制。

2 方法与结果

2.1 薄层鉴别

2.1.1 当归尾 取本品 10 粒,倾出内容物,加乙醚 20 mL,超声处理 15 min,滤过,滤液挥干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取当归尾对照药材 0.1 g,同法制成对照药材溶液。再取不含当归尾的阴性样品,同法制成阴性溶液。照薄层色谱法(中国药典 2005 年一部附录 VIB)试验,吸取上述 3 种溶液各 5 μ L,分别点于同一硅胶 G 薄层板上,以环己烷-乙酸乙酯(9:1)为展开

剂,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,阴性色谱中无相应的斑点。结果见图 1。



图 1 当归尾 TLC 鉴别

1, 2, 4—样品; 3—当归尾对照药材; 5—阴性样品

Fig 1 TLC identification of *Radix angelicae sinensis*

1, 2, 4—sample; 3—reference; 5—blank

2.1.2 延胡索 取本品 15 粒,倾出内容物,加甲醇 50 mL,超声处理 30 min,滤过,滤液蒸干,残渣加水 20 mL 使溶解,加浓氨试液调 pH 值为 10~11,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,加 1 g 中性氧化铝拌匀,水浴蒸干,置于中性氧化铝柱(5 g,直径 2 cm,干法装柱)上,用无水乙醇 60 mL 洗脱,收集洗脱液,蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取延胡索乙素对照品,加甲醇制成每 1 mL 含 0.5 mg 的溶液,作为对照品溶液。再取不含延胡索的阴性样品,同法制成阴性溶液。照薄层色谱法(中国药典 2005 年一部附录 VIB)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,以正己烷-氯仿-甲醇(7.5:4:1)为展开剂,展开,取出,晾干。用碘蒸气熏至斑点清晰,在空气中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,在与对照品色谱相应的位置上,显相同颜色的荧光斑点,阴性色谱中无相应的斑点。结果见图 2。

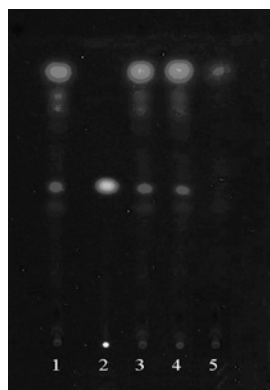


图 2 延胡索 TLC 鉴别

1, 3, 4-样品; 2-延胡索乙素对照品; 5-阴性样品

Fig 2 TLC identification of *Rhizoma corydalis*

1, 3, 4-sample; 2-reference; 5-blank

2.1.3 甘草 取本品 15 粒,倾出内容物,加甲醇 30 mL,加热回流 1 h,滤过,滤液蒸干,残渣加水 20 mL 使溶解,用乙醚提取 3 次,每次 20 mL,弃去乙醚液,水液再用乙酸乙酯提取 3 次,每次 20 mL,合并乙酸乙酯液,水浴蒸干,残渣加甲醇 1 mL 使溶解,作为供试品溶液。另取甘草对照药材 0.1 g,同法制成对照药材溶液。再取不含甘草的阴性样品,同法制成阴性溶液。照薄层色谱法(中国药典 2005 年一部附录 VIB)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,以乙酸乙酯-甲酸-冰醋酸-水(15:1:1:2)为展开剂,展开,取出,晾干,喷以 10%硫酸乙醇溶液,105 $^{\circ}$ 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,显相同颜色的主斑点,阴性色谱中无相应的斑点。结果见图 3。

2.1.4 丹参 取本品内容物 6 g,加乙醚 50 mL,超声处理 15 min,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。另取丹参对照药材 1 g,同法制成对照药材溶液。再取丹参酮 II_A 对照品,加乙酸乙酯制成每 1 mL 含 2 mg 的溶液,作为对照品溶液。再取不含丹参的阴性样品,同法制成阴性溶液。照薄层色谱法(中国药典 2005 年一部附录 VIB)试验,吸取上述 4 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

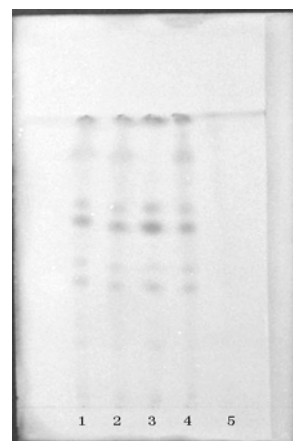


图 3 甘草 TLC 鉴别

1, 2, 4-样品; 3-甘草对照药材; 5-阴性样品

Fig 3 TLC identification of *Radix Glycyrrhizae*

1, 2, 4-sample; 3-reference; 5-blank

(19:1)为展开剂,展开,取出,晾干。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;在与对照品色谱相应的位置上,显相同的暗红色斑点,阴性色谱中无相应的斑点。结果见图 4。



图 4 丹参 TLC 鉴别

1-阴性样品; 2, 3, 4-样品; 5-丹参酮对照品药材; 6-丹参对照品药材

Fig 4 TLC identification of *Salvia miltiorrhiza* Bge

1-*Salvia miltiorrhiza* Bge reference; 2, 3, 4-sample; 5-tanshinone- II_A reference; 6-blank

2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件 C₁₈ 柱(shim-pack VP-ODS, 6.0 mm $\times$ 150 mm, 5 μ m), 乙腈-0.1%磷酸溶液(三乙胺调 pH 值为 3.5)(10:90)为流动相;检测波长为 254 nm。理论塔板数按士的宁峰计为 5 000。

2.2.2 对照品溶液制备 精密称取士的宁对照品 0.010 53 g,置 100 mL 量瓶中,加甲醇适量使溶解并定容至刻度,摇匀,作为对照品储备液;精密量取储备液 15 mL 置 100 mL 量瓶中,加甲醇稀释

至刻度，摇匀，作为对照品溶液。

2.2.3 专属性试验 精密吸取对照品溶液、供试品溶液及不含马钱子的阴性溶液，按上述色谱条件测定，阴性对照色谱图中在与士的宁对照品相应的保留时间处无色谱峰，表明本法专属性良好。色谱图见图 5。

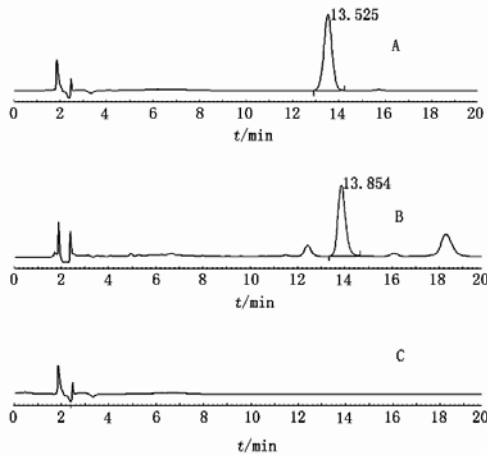


图 5 对照品、供试品与阴性对照色谱图
A-对照品；B-样品；C-阴性对照品

Fig 5 HPLC chromatograms of reference, sample and blank
A-reference; B-sample; C-blank

表 1 回收率试验测定结果(n=6)

Tab 1 Results of recovery test(n=6)

取样量/g	样品中 含量/mg	对照品 加入量/mg	测得 总量/mg	回收率/%	平均/%	RSD/%
2.081 1	0.247 7	0.290 5	0.535 9	99.21	98.8	0.85
2.010 5	0.239 2	0.290 5	0.524 0	98.04		
2.005 6	0.238 7	0.290 5	0.522 3	97.63		
2.100 2	0.249 9	0.290 5	0.540 1	99.90		
2.006 8	0.238 8	0.290 5	0.526 8	99.14		
2.030 9	0.241 7	0.290 5	0.529 6	99.10		

2.2.8 样品测定 取本品 30 粒，倾出内容物，混匀，精密称定，取 4 g，精密称定，加入浓氨试液 1.5 mL 使湿润，精密加氯仿 50 mL，密塞，称定重量，放置过夜，超声处理(功率:150W，频率:50Hz)30 min，放冷，再称定重量，用氯仿补足减失的重量，摇匀，滤过，精密量取续滤液 15 mL，用 3%硫酸溶液提取 4 次，每次 20 mL，合并酸液，用浓氨试液调 pH 值为 9~10，用氯仿强力振摇提取 4 次，每次 20 mL，合并氯仿液，水浴蒸干，残渣用甲醇定容至 10 mL 量瓶中，用 0.45 μm 的微孔滤膜滤过，取续滤液，进样，测定，结果见表 2。

表 2 样品测定结果(n=3)

Tab 2 The contents of sample(n=3)

批 号	含量/mg·粒 ⁻¹
060401	0.041
060402	0.041
060403	0.040

2.2.4 线性关系考察 取士的宁对照品溶液，分别进样 2, 10, 20 μL ，再取士的宁对照品储备液，分别进样 5, 10 μL ，记录峰面积，以进样量为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，回归方程为 $Y=2\ 514\ 504.73 X-26\ 836.65$ ， $r=0.999\ 5$ ，表明士的宁在 0.031 59~1.053 μg 内呈良好的线性关系。

2.2.5 重复性试验 取本品 6 份，按样品测定项下方法制备供试品溶液，测定，平均含量为 0.119 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ，RSD 为 1.49%，表明重复性良好。

2.2.6 稳定性试验 取一份供试品溶液，分别在 0, 1, 2, 4, 6, 18, 24 h 进样测定，记录峰面积，RSD 为 1.56%，表明供试品溶液至少在 24 h 内稳定。

2.2.7 回收率试验 取已知含量的样品(0.119 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)2 g，精密称定，加入浓氨试液 1.5 mL 使湿润，精密加士的宁对照品的氯仿溶液(0.005 810 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)50 mL，称定重量，放置过夜，超声处理 30 min，放冷，用氯仿补足减失的重量，摇匀，滤过，精密量取续滤液 15 mL，自“2.2.8”项下“用 3%硫酸溶液萃取 4 次……”起，同法制备供试品溶液，测定。结果见表 1。

3 讨论

薄层鉴别分别采用手铺板、预制板(青岛海洋化工厂)等 2 种薄层板进行试验，结果均得到了较好的色谱，证明本方法有较好的适用性。

马钱子中主要成分士的宁为吲哚类生物碱，其在色谱柱上的保留行为受 pH 值影响较大，本实验色谱条件减少了色谱峰拖尾，提高了柱效，样品达到了基线分离，且不需加离子对试剂，利于保护色谱柱。除正文所用色谱柱外，还分别比较了 2 种不同品牌的色谱柱(Symmetry Shield RP₁₈、Capcell pak C₁₈ MG II)对结果的影响，结果表明在此色谱条件下 3 根色谱柱均能得到很好的分离，测定结果一致。

REFERENCES

- [1] The Drug Standards of Ministry of Health Chinese Medicine 17th (《卫生部药品标准》中药成方制剂第十七册)[S]: 119.

- [2] JIN H Y, TIAN J G, ZHANG L, et al. Determination of strychnine and brucine of Strychnos by RP-HPLC [J]. Chin Pharm Aff (中国药事), 2005, 19(4): 219-221.
- [3] TIAN H, LI Y H, ZHU J C. Determination of strychnine and brucine of Fufangfengshi pills by HPLC [J]. Lishizhen Med

Mater Med Res (时珍国医国药), 2005, 16(9): 859-860.

- [4] SHEN R, CHEN Z H, TAN J. Study on quality control of Bujin tablets [J]. Chin J Mod Appl Pharm (中国现代应用药学), 2009, 26(7): 593-596.

收稿日期: 2009-07-27