

活血降酶散质量标准研究

李怀彪¹, 袁国文¹, 毛和平², 刘效栓³, 隆旭红¹

(1. 嘉峪关市药品检验所, 甘肃 嘉峪关 735100; 2. 酒钢医院, 甘肃 嘉峪关 735100;
3. 甘肃省中医院, 兰州 730000)

[摘要] 目的: 建立活血降酶散的质量标准。方法: 采用薄层色谱法鉴别组方中五味子、红花、丹参 3 味药; 采用高效液相色谱法测定组方中主药丹参所含药理活性成分丹参酮_A的含量。结果: 薄层色谱鉴别斑点清晰; 丹参酮_A进样量在 0.026 67 ~ 0.213 4 μg 线性良好, 平均回收率为 101.19%, RSD 1.18%。结论: 所用方法简单、准确, 可有效控制和血降酶散的质量。

[关键词] 活血降酶散; 薄层色谱鉴别; 高效液相色谱法; 丹参酮_A

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2010)17-0083-04

Studies on Quality Standards for Huoxuejiangmei Powder

LI Huai-biao¹, YUAN Guo-wen¹, MAO He-ping², LIU Xiao-shuan³, LONG Xu-hong¹

(1. Jiayuguan Institute for Drug Control, Jiayuguan 735100, China;

2. Jiugang Hospital, Jiayuguan 735100, China;

3. Gansu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the quality standards for Huoxuejiangmei powder. **Method:** TLC method was used for identification of *Fructus Schisandra Chinensis*, *Flos Carthami* and *Radix et Rhizoma Salviae Miltionrhizae*; and HPLC methods was used for the contents of tanshinone_A in *Radix et Rhizoma Salviae Miltionrhizae* in Huoxuejiangmei powder. **Result:** TLC method was simple, specific reproducible; HPLC method established was simply and accurate. Tanshinone_A was linear in the rang of 0.026 67-0.213 4 μg. The average recovery was 101.19% (RSD 1.18%). **Conclusion:** This quality standard can control the quality of Huoxuejiangmei Powder effectively.

[Key words] Huoxuejiangmei powder; TLC; HPLC; tanshinone_A

活血降酶散是由丹参、五味子、红花组成的临床经验方, 经过多年临床疗效观察, 对肝炎(包括甲肝, 乙肝, 丙肝)和黄疸型肝炎瘀血引起的血清转氨酶升高者有非常显著的降酶作用; 同时能保护肝细胞损伤, 促进肝细胞再生。为确保有效控制该制剂的质量, 我们对其质量标准进行研究。

1 材料

BisepTM-1100 型高效液相色谱(美国通微公

司); LC-10AD 高效液相色谱仪(日本岛津公司); U-3900H 紫外-可见分光光度计(HITACHI 日立公司); WHF203B 三用紫外分析仪(天津思利达科技有限公司); HS2060A 超声波清洗器。含量测定用甲醇为色谱纯, 水为去离子水, 其他试剂均为分析纯。制备 3 个批次供试品(20090705, 20090820, 20090910)药材均由酒钢医院提供; 五味子对照药材(批号 120922-200606), 红花对照药材(批号 907-9905), 丹参对照药材(批号 120923-200610), 丹参酮_A对照品(批号 110766-200314), 均由中国药品生物制品检定所提供, 含量测定用。

[收稿日期] 20100611(003)

[第一作者] 李怀彪, 主管药师, 研究方向药品检验, Tel: 0937-6712956, E-mail: jgyylgb@sina.com

硅胶 G 薄层板(安徽良臣硅源材料有限公司), 硅胶 H 薄层板(青岛海洋化工厂)。

2 方法与结果

2.1 制剂制法 将丹参、五味子、红花 3 味中药按处方剂量称量配齐, 混合粉碎成细粉, 过筛, 混匀即得。

2.2 薄层色谱鉴别 五味子: 取阳性供试品粉末 3 g, 置具塞锥形瓶中加甲醇 20 mL, 超声提取 20 min, 取出, 放凉, 滤过, 滤液于水浴上蒸干, 残渣加乙酸乙酯 1 mL 使溶解, 作为阳性供试品溶液。另取阴性供试品(无五味子)粉末 2 g, 同法制成阴性供试品溶液。再取五味子对照药材 1 g 同法制成对照药材溶液。照《中国药典》2005 年版一部附录 B 薄层色谱法试验, 吸取上述 3 种溶液各 2 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚(30~60 $^{\circ}$ C)-乙酸乙酯-乙酸(15:5:1)的上层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干。置紫外光灯(365 nm)下检视。阳性供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应位置上, 显相同颜色的荧光斑点(淡黄色)。而阴性供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应位置上, 不显荧光斑点。

红花: 取阳性供试品粉末 1.5 g, 置具塞锥形瓶中加 80% 丙酮溶液 5 mL, 超声提取 15 min, 取出, 静置, 吸取上清液, 作为阳性供试品溶液。另取阴性供试品(无红花)粉末 1 g, 同法制成阴性供试品溶液。再取红花对照药材 0.5 g, 同法制成对照药材溶液。照《中国药典》2005 年版一部附录 B 薄层色谱法试验, 吸取上述 3 种溶液各 3 μ L, 分别点于同一硅胶 H 薄层板上, 以乙酸乙酯-甲酸-水-甲醇(7:2:3:0.4)为展开剂, 展开, 取出, 晾干。阳性供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应位置上, 显相同颜色的斑点(桔红色)。而阴性供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应位置上, 不显相同颜色的斑点。

丹参: 取阳性供试品粉末 3 g, 置具塞锥形瓶中加甲醇 20 mL, 超声提取 20 min, 取出, 放凉, 滤过, 滤液于水浴上蒸干, 残渣加乙酸乙酯 1 mL 使溶解, 作为阳性供试品溶液。另取阴性供试品(无丹参)粉末 2 g, 同法制成阴性供试品溶液。再取丹参对照药材 0.5 g, 同法制成对照药材溶液。再取丹参酮 A 对照品, 加乙酸乙酯制成 1 mL 含 1 mg 的对照品溶液。照《中国药典》2005 年版一部附录 B 薄层色谱法试验, 吸取上述 4 种溶液各 3 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以苯-乙酸乙酯(19:1)为展开

剂, 展开, 取出, 晾干。阳性供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应位置上, 显相同颜色的斑点; 在与对照品色谱相应位置上, 显相同颜色的斑点(砖红色)。而阴性供试品色谱中, 在与对照药材色谱及对照品色谱相应位置上, 均不显相同颜色的斑点。

2.3 含量测定

2.3.1 色谱条件 C_{18} 色谱柱(DaisoSp-120-5-ODS-AP, 4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m); 流动相甲醇-水(80:20); 检测波长为 270 nm, 柱温 30 $^{\circ}$ C; 流速 1.0 mL \cdot min $^{-1}$ 。理论塔板数按丹参酮 A ($C_{19}H_{18}O_3$) 峰计算不低于 2 000, 分离度大于 1.5。

2.3.2 对照品溶液的制备 取丹参酮 A 对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成 10.668 mg \cdot L $^{-1}$ 的溶液, 即得。

2.3.3 供试品溶液的制备 取同一批次(20090820)阳性供试品粉末 0.9 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 25 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理(功率 200 W, 频率 40 kHz) 30 min, 放冷, 再称定质量, 用甲醇补足减失的质量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.3.4 阴性对照试验 按处方取除丹参外的各味药材混合粉末 0.6 g, 按阳性供试品溶液的制备方法, 同法制得阴性供试品溶液。精密吸取对照品溶液、供试品溶液及阴性供试品溶液各 5 μ L, 注入液相色谱仪, 测定。结果阴性供试品在与丹参酮 A 对应的保留时间处无干扰, 结果见图 1。

2.3.5 线性关系考察 取 2.3.2 项下溶液, 作为储备液。分别精密吸取上述储备液 2.5, 5, 10, 15, 20 μ L, 注入液相色谱仪, 按 2.3.1 色谱条件分析, 测定各自峰面积, 以对照品进样量(μ g)为横坐标, 峰面积均值为纵坐标, 求得回归方程 $Y = 6 \times 10^6 X - 1.43 \times 10^3$, $r = 0.9999$ 。结果表明丹参酮 A 对照品在 0.026 67~0.213 4 μ g 线性良好。

2.3.6 精密度试验 精密吸取 2.3.2 项下储备液 5 μ L, 按 2.3.1 色谱条件分析, 连续进样 6 次, 测定丹参酮 A 峰面积, 峰面积平均值为 314 368, RSD 0.72%。表明仪器精密度良好。

2.3.7 稳定性试验 取同一批次(20090820)供试品粉末 0.9 g, 精密称定, 按供试品溶液的制备方法制备, 按 2.3.1 色谱条件分析, 分别在 0, 2, 4, 6, 8, 10 h 进样, 测得各自峰面积值的 RSD 0.59%。

2.3.8 重复性试验 取同一批次(20090820)供试

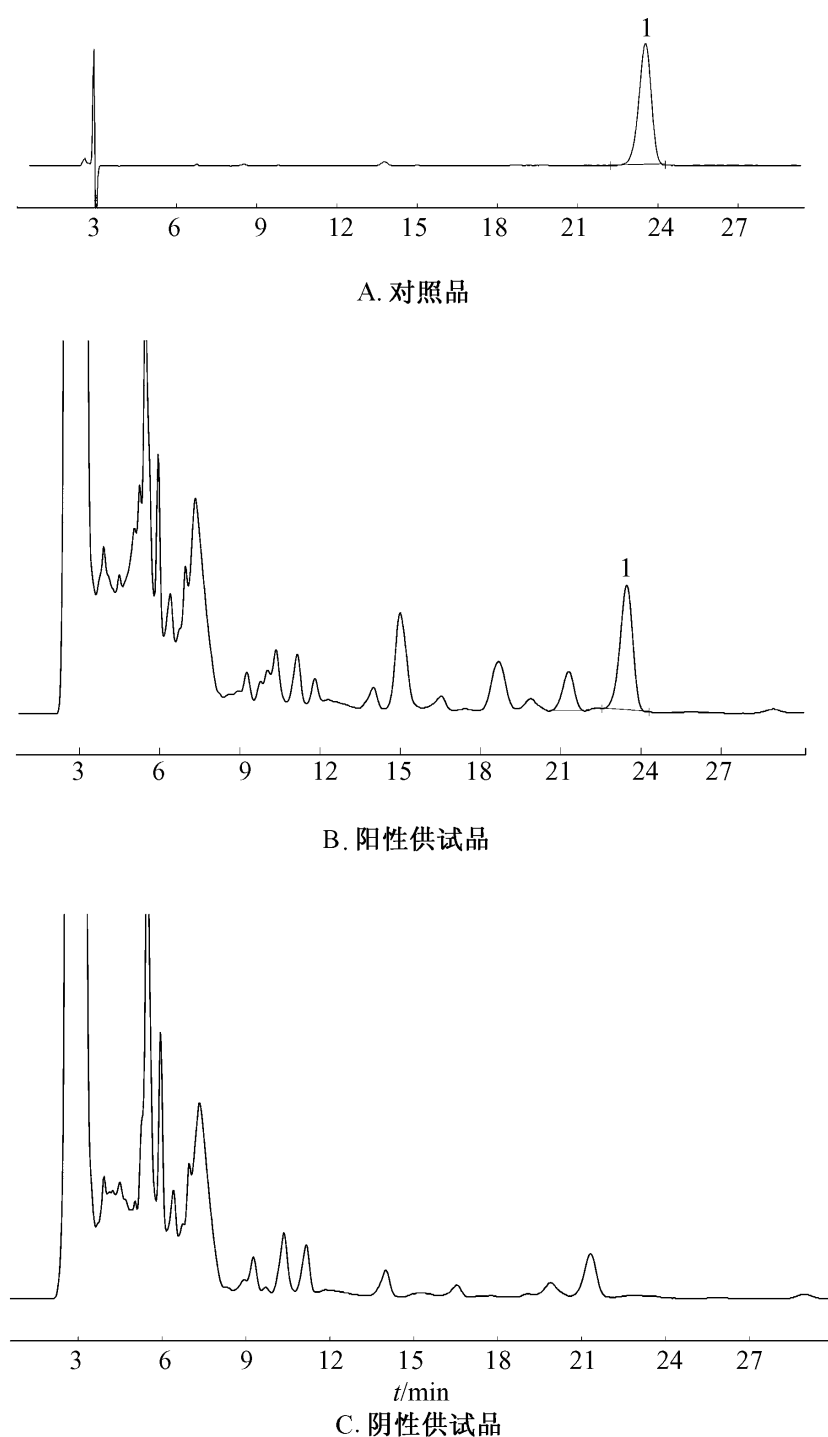


图 1 活血降酶散 HPLC
1. 丹参酮_A

品粉末 6 份, 每份 0.9 g, 精密称定, 按阳性供试品溶液的制备方法制备, 按 2.3.1 色谱条件分析测定, 结果供试品中丹参酮_A 平均 $0.31 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 0.32%。

2.3.9 回收率试验 取同一批次(20090820) 阳性供试品粉末 6 份, 每份 0.45 g, 精密称定, 分别精密加入丹参酮_A 对照品甲醇储备溶液($10.668 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 25 mL, 按阳性供试品溶液的制备方法制备, 测定, 计算回收率, 结果平均回收率为 101.19%, RSD 1.18%。结果见表 1。

2.3.10 样品测定 按正文方法测定 3 批样品(批号 20090705, 20090820, 20090910), 丹参酮_A 的质量分数分别为 0.2889 , 0.3075 , $0.3165 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 3 批平均值 $0.3043 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

表 1 活血降酶散回收率试验

No.	称样量 /g	样品中量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD/%
1	0.4512	0.1399	0.2667	0.4099	101.24		
2	0.4511	0.1398	0.2667	0.4081	100.60		
3	0.4516	0.1400	0.2667	0.4125	102.17	101.19	1.18
4	0.4511	0.1398	0.2667	0.4124	102.21		
5	0.4520	0.1401	0.2667	0.4044	99.10		
6	0.4511	0.1398	0.2667	0.4114	101.84		

3 讨论

3.1 波长的选择 通过对丹参酮_A 对照品溶液在 200~400 nm 处进行紫外光谱扫描检测显示, 丹参酮_A 在 270 nm 处有最大吸收, 与文献[2] 采用的波长相同。

3.2 提取方法的确定与考察

3.2.1 提取方式的确定 考察超声处理(功率 200 W, 频率 40 kHz) 与加热回流 30 min, 结果显示, 采用超声处理阳性供试品中丹参酮_A 含量与加热回流含量基本一致, RSD 1.0%, 故采用超声处理方式提取, 以简化操作。分别考察超声处理(功率 200 W, 频率 40 kHz) 15, 30, 45 min, 结果显示, 超声提取 30 min 时阳性供试品中丹参酮_A 含量较高, 故提取时间定为 30 min。

3.2.2 提取溶剂的比较 分别考察了甲醇与乙醇作为溶剂提取以及溶剂用量, 结果显示, 采用甲醇提取阳性供试品中丹参酮_A 含量比乙醇提取含量略高, RSD 2.57%, 提取溶剂量为 25 mL 时阳性供试品中丹参酮_A 含量较高, 故将提取溶剂量定为 25 mL。

3.3 耐用性试验

3.3.1 不同色谱柱的考察 分别用 DaisoSp-120-5-ODS-AP C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 与 AT.LICHROM C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) 色谱柱, 采用 BisepTM-1100 型高效液相色谱仪, 测定同一批次(20090820) 阳性供试品中丹参酮_A 含量, 二者 RSD 0.58%。结果显示, 不同色谱柱对测定结果无影响。

3.3.2 不同仪器的考察 采用 DaisoSp-120-5-ODS-AP C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 分别在 BisepTM-1100 型与 LC-10AD 型高效液相色谱仪上, 测定同一批次(20090820) 阳性供试品的含量, 二者 RSD 0.7%。结果显示, 不同仪器对测定结果无影响。

响。
3.3.3 实验室温湿度的考察 薄层色谱分析时, 温度设计为低温 8 与室温 20, 相对湿度设计为低湿 32% 或 38% 与高湿度 58% 考察。结果表明五味子 TLC 行为以低温 8 与室温 20, 高湿度 58% 的环境为好; 红花、丹参的 TLC 行为在低温 8, 低

湿与高湿条件下均有较好的分离。

[参考文献]

- [1] 周福成. 2010 年版《中国药典》编制工作报告[J]. 中国药品标准, 2010, 9(1): 9.
[2] 中国药典. 一部[S]. 2005: 58, 附录 6, 18, 31, 33, 114.

[责任编辑 顾雪竹]

(上接第 82 页)

红果山胡椒果实挥发油的成分大部分与红果山胡椒的枝叶挥发油成分有较大差异, 可能是因不同药用部位, 所含化学成分也就有所差异。本研究对于开发利用和进一步深入研究红果山胡椒这一植物提供了科学依据。

海科学技术出版社, 1999: 3, 62.

- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上册. 上海: 上海科学技术出版社, 1986: 1363.
[3] 张瑞贤, 王婧, 张慕群, 等. 唐代江南道药出州土浅析[J]. 江西中医学院学报, 2007, 19(1): 38.

[责任编辑 顾雪竹]

[参考文献]

- [1] 国家中医药管理局. 中华本草[M]. 第 3 册. 上海: 上

《中国中药杂志》2011 年征订启事

《中国中药杂志》系中国科协主管, 中国药学会主办, 中国中医科学院中药研究所承办的综合性中药学术期刊。创刊于 1955 年 7 月, 是创早最早、发行量最大的中药学术刊物。《中国中药杂志》全面反映我国中医科研最高学术水平, 主要报道该领域新成果、新技术、新方法与新思路, 内容包括栽培、资源与鉴定、炮制、药剂、化学、药理、不良反应、临床等。设有专论、综述、研究论文、研究报告、临床、学术探讨、药事管理、经验交流、信息等栏目。主要读者对象为医药领域各级管理部门、科研院所、大专院校、企业以及医院等从事医药科研、管理、生产、医院制剂及临床研究等方面的专业人员。

《中国中药杂志》现为半月刊, 128 页, 2010 年定价每期 30 元, 全年 24 期定价为 720 元。国内刊号 11 - 2272/R, 国际刊号 1101 - 5302。

本刊现已全面实现网络编辑办公, 如欲投稿或联系本刊、获取本刊各种信息动态请登录中国中药杂志网站 www.cjcmm.com.cn 或 www.中国中药杂志.com。

联系电话: 稿件查询 010 - 64045830 转 602; 主任电话 010 - 64058556; 资源与栽培栏编辑: 010 - 64048925; 制剂栏编辑: 010 - 64040392; 化学栏编辑: 010 - 64040113; 药理栏编辑: 010 - 84022522; 临床栏编辑: 010 - 64059766; 电子杂志制作发行及网上维护: 010 - 64030625。