

保心宁分散片的薄层鉴别与含量测定方法研究

崔颖*, 陆忠祥, 吕凌, 杨士友

(安徽省药物研究所安徽省中药研究与开发重点实验室, 安徽 合肥 230022)

[摘要] 目的: 建立保心宁分散片的薄层鉴别与含量测定方法。方法: 用薄层色谱法鉴别三七、当归、枳壳, 用高效液相色谱法测定本制剂中丹参酮 II_A 的含量。结果: 薄层鉴别的色谱斑点清晰, 阴性对照无干扰; 含量测定丹参酮 II_A 进样量在 0.042 ~ 0.672 μg 范围内与峰面积呈良好的线性关系 ($r = 0.9999$), 平均回收率为 100.50%, RSD 为 1.56% ($n = 6$)。结论: 本方法准确、简便, 灵敏度高, 可作为该制剂质量控制。

[关键词] 保心宁分散片; 丹参酮 II_A; 薄层色谱法; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)06-0018-03

Study on Identification and Assay Methods of Baoxinling Dispersible Tablets

CUI Ying*, LU Zhong-xiang, LV Lin, YANG Shi-you

(Anhui Key Laboratory of TCM Research and development, Anhui Institute of Materia Medica, Hefei, 230022, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the methods for TLC identification and content determination of Baoxinling dispersible tablets. **Method:** Radix Notoginseng, Chinese Angelica and Fructus Aurantii was identified by TLC, while tanshinone II_A was determined by RP-HPLC. **Result:** The spot on the thin layer plate was clear. The negative contrast was no interference. The linear range of tanshinone II_A was 0.042 ~ 0.672 μg ($r = 0.9999$). The average recovery was 100.50% with RSD = 1.56% ($n = 6$). **Conclusion:** The method is accurate and simple for the quality control of Baoxinling dispersible tablets.

[Key words] Baoxinling Dispersible Tablets; tanshinone II_A; TLC; RP-HPLC

保心宁分散片由丹参、三七、当归和枳壳组成, 功效为活血化瘀, 行气止痛, 用于心绞痛, 心律失常, 改善冠心病症状。文献报道^[1]用薄层色谱扫描法对保心宁胶囊中丹参酮 II_A 的含量进行了测定。本试验采用高效液相色谱法对有效成分丹参酮 II_A 进行了含量测定, 对本品中三七、当归和枳壳进行了薄层色谱鉴别, 为该制剂建立完善的质量标准提供了依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器 日本岛津 LC-10ATvp 型高效液相色谱

仪(单泵, 紫外检测器, N2000 数据工作站); AE240 型电子天平(瑞士 Mettler 公司); KQ-100DE 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); SYZ-A 型石英亚沸高纯水蒸馏器(金坛市晶玻实验仪器厂); 硅胶 G 板(青岛海洋化工厂)。

1.2 试药 丹参酮 II_A(批号: 110766-200416); 人参皂苷 Rb₁(批号: 110704-200318); 人参皂苷 Rg₁(批号: 110703-200322); 三七皂苷 R₁(批号: 110745-200312); 柚皮苷(批号: 110722-200108); 当归对照药材(批号: 120927-200310), 均购置于中国药品生物制品检定所; 水(二次重蒸水, 自制), 甲醇(色谱纯, 天津四友), 其余试剂均为分析纯; 保心宁分散片(批号分别为 050805、050816、050827)和阴性样品均为自制。

[收稿日期] 2008-07-01

[通讯作者] * 崔颖, Tel: (0551) 3669427; E-mail: cuiying511@sina.com

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

2.1.1 三七的鉴别 取本品 3 片, 研细, 加乙醚 40 mL, 超声处理 30 min, 滤过。滤渣挥干乙醚后加水饱和的正丁醇 20 mL, 密塞, 超声处理 10 min, 滤过, 取滤液, 加正丁醇饱和的水 50 mL, 振摇, 放置使分层, 取正丁醇层, 置蒸发皿中, 蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。取缺三七药材的阴性对照样品, 同法制成阴性样品溶液。另取人参皂苷 R_{b_1} 、人参皂苷 R_{g_1} 及三七皂苷 R_1 对照品, 加甲醇制成每 1 mL 各含 1 mg 的混合溶液, 作为对照品溶液。吸取上述溶液各 2 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水(15: 40: 22: 10) 10 $^{\circ}$ C 以下放置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), 于 105 $^{\circ}$ 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, 显相同颜色的斑点。阴性对照样品不显斑点。薄层图见图 1。

2.1.2 当归鉴别 取本品 3 片, 研细, 加乙醚 40 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 取滤液蒸干, 残渣加乙醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取缺当归干浸膏的阴性对照样品适量和当归对照药材 1 g, 同法制成阴性样品溶液和对照药材溶液。吸取上述溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正己烷-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。阴性对照样品不显斑点。薄层图见图 2。

2.1.3 枳壳鉴别 取本品 2 片, 研细, 加水 40 mL, 超声处理 30 min, 滤过, 滤液用乙酸乙酯提取 2 次, 每次 30 mL, 合并乙酸乙酯提取液, 置水浴上蒸干, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。取缺枳壳干浸膏的阴性对照样品, 同法制成阴性样品溶液。另取柚皮苷对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 1 mg 的溶液, 作为对照品溶液。吸取上述溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-甲醇-水(32: 17: 5) 的下层溶液为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 2% 三氯化铝试液, 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。阴性对照样品不显斑点。薄层图见图 3。

2.2 含量测定

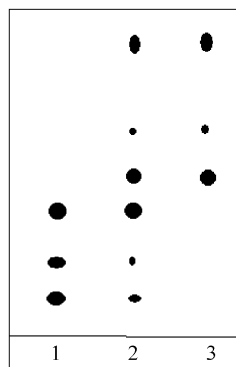


图 1 三七 TLC 图

1 对照品; 2 样品;
3 阴性样品

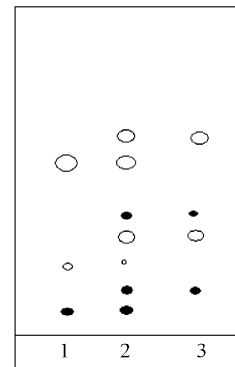


图 2 当归 TLC 图

1 对照药材; 2 样品;
3 阴性样品

2.2.1 色谱条件 色谱柱: Cosmosil ODS_{C18} 柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-水(78: 22); 检测波长: 270 nm; 流速: 1 mL \cdot min $^{-1}$; 进样量: 20 μ L。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取丹参酮 II_A 对照品 10 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀; 精密量取 2 mL, 置 25 mL 棕色量瓶中, 加甲醇制成每 1 mL 中含丹参酮 II_A 8 μ g 的溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品 20 片, 研成细粉, 取 0.2 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加入甲醇适量, 超声处理 10 min, 放冷, 加甲醇至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

2.2.4 阴性对照溶液的制备 按处方量称取缺丹参药材的阴性对照样品, 按供试品溶液的制备方法制成阴性对照溶液。

2.2.5 干扰试验 按照上述色谱条件测定, 供试品在与对照品相应位置上有相同保留时间的色谱峰, 而阴性样品在此无干扰。供试品、对照品和阴性样品的 HPLC 图见图 4。

2.2.6 线性关系考察 精密称取丹参酮 II_A 标准品 10.5 mg, 置 100 mL 容量瓶中, 加甲醇使溶解并稀释至刻度; 精密吸取上述溶液 0.5, 1, 2, 4, 8 mL 置 25 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 分别精密吸取上述溶液各 20 μ L, 按上述色谱条件注入液相色谱仪, 以峰面积(Y) 为纵坐标, 进样量(X) 为横坐标进行线性回归, 得回归方程 $Y = 724X - 3.53 \times 10^3$; 相关系数为 $r = 0.9999$; 说明丹参酮 II_A 在 0.042~0.672 μ g 范围内, 进样量与峰面积呈良好的线性关系。

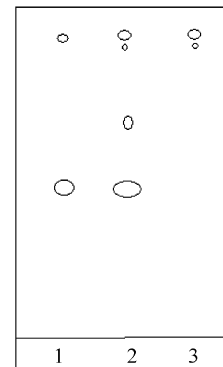


图 3 枳壳 TLC 图

1 柚皮苷对照品;
2 样品;
3 阴性样品

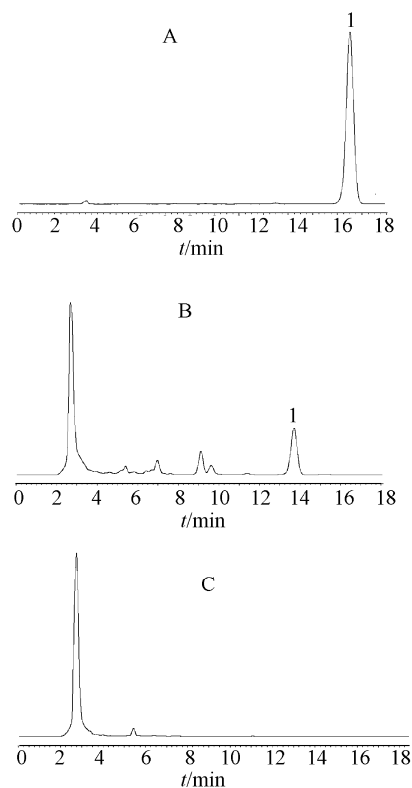


图 4 保心宁分散片 HPLC 图

A 丹参酮II_A 对照品; B 供试品; C 阴性样品; 1 丹参酮II_A

2.2.7 精密度试验 取批号 050805 样品的供试品溶液, 重复进样 6 次, 测定峰面积值, 其 RSD = 0.36%, 表明仪器精密度良好。

2.2.8 重复性试验 精密称取同一批号(批号 050805)样品共 6 份, 按供试品溶液项下方法制备供试液, 精密量取该溶液 20 μ L, 按上述色谱条件注入液相色谱仪, 并按外标法以峰面积计算, 结果平均含量为 2.489 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, RSD 为 1.04% ($n=6$)。

2.2.9 稳定性试验 精密吸取同一样品溶液 20 μ L 分别于 0, 1, 2, 4, 6, 8 h 测定峰面积值, 其 RSD = 0.62%, 表明样品溶液在 8h 内较稳定。

2.2.10 回收率试验 精密称取已知含量的同一批

号的样品(批号: 050805, 2.489 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$) 适量, 共 6 份, 分别加入丹参酮 II_A 对照品适量, 按 2.2.3 项下方法制成供试液, 精密量取该溶液 20 μ L, 按上述色谱条件注入液相色谱仪, 并按外标法以面积计算, 结果平均回收率为 100.50%, RSD 为 1.56% ($n=6$)。

2.2.11 样品测定 连续 3 批自制样品按供试品溶液项下方法制备, 分别精密量取对照品和供试品溶液各 20 μ L, 按上述色谱条件注入液相色谱仪, 并按外标法以面积计算, 结果平均含量分别为 2.69, 2.47, 2.52 $\text{mg}/\text{片}$ 。

3 讨论

原剂型保心宁胶囊^[2]中当归和枳壳薄层鉴别采用大量的甲苯, 对环境容易造成污染, 参照文献^[3]中《急支糖浆》和《小金丸》中枳壳和当归的鉴别方法, 以柚皮苷对照品和当归药材为对照, 在上述薄层色谱条件中, 斑点清晰, 分离度好, 阴性无干扰。

本品为分散片, 同时进行分散均匀性检查。取分散片 2 片, 置 100 mL 水中振摇, 在 (20 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 水中, 3 min 应全部崩解并通过 2 号筛。结果 3 批样品均符合规定。

保心宁分散片为药物的新剂型, 所用的辅料比普通片剂多, 在选定的条件下测定时辅料不干扰主要成分的鉴别和测定, 灵敏度高, 重复性好, 能有效控制保心宁分散片的质量。

[参考文献]

- [1] 刘玉珍, 刘庆荣, 钱本余. 保心宁胶囊质量标准的研究[J]. 中成药, 1994, 16(1): 20-21.
- [2] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 药品标准·中药成方制剂[S]. 第 11 册, 1996: 142.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2000: 378, 534.