

# 高效液相色谱法测定冠心 II 号汤剂及其干浸膏中 4 种指标成分的含量

屈扬<sup>1</sup>, 黄熙<sup>2\*</sup>, 梅其炳<sup>1</sup>

(1. 第四军医大学药理学系药理教研室, 陕西 西安 710032;

2. 四川大学华西医院中西医结合科, 四川 成都 610000)

**[摘要]** 目的: 用高效液相色谱(HPLC)法测定冠心 II 号汤剂及其干浸膏中丹参素、原儿茶醛、芍药甙、阿魏酸的含量, 为冠心 II 号的临床研究提供较为理想的剂型。方法: Diamonsil C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 1% 乙酸-甲醇(70: 30)为流动相, 流速: 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长: 丹参素、原儿茶醛 280 nm, 芍药苷 230 nm, 阿魏酸 322 nm。结果: 丹参素和原儿茶醛的含量在干浸膏 I 中最高, 干浸膏 II 中次之, 汤剂中最低; 而芍药甙的含量在汤剂中最高, 干浸膏 I 中次之, 干浸膏 II 中最低; 阿魏酸在汤剂中的含量比干浸膏 I 中多, 在干浸膏 II 中未测出阿魏酸。结论: 冠心 II 号汤剂和干浸膏 I 各有优劣, 醇沉浓缩的方法对有效成分有影响。

**[关键词]** 高效液相色谱; 冠心 II 号; 汤剂; 干浸膏; 丹参素; 原儿茶醛; 芍药甙; 阿魏酸

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2008)02-0003-03

汤剂是中药在临床上应用最多的一种剂型, 它具有吸收快、起效快的特点, 并且能根据病人的情况而随证加减药物, 符合中医辨证论治的治疗原则。不足之处是一次煎煮的量有限, 长时间储存易变性, 不利于复方较长时间的实验研究, 且服用量大。干浸膏一次制备的量多, 易于储存、使用方便。本文以

冠心 II 号为研究对象, 以丹参素、原儿茶醛、芍药苷、阿魏酸为指标成分, 比较冠心 II 号汤剂及其干浸膏中 4 种成分的含量变化, 为下一步进行冠心 II 号的临床研究提供较为理想的剂型。

## 1 材料和试药

**1.1 仪器** 美国 Waters 高效液相色谱系统, 600 泵, 996 二极管阵列检测器, 7725 手动进样器, M32 色谱工作站, Digital 计算机; RGLW01-5 顺流立式离心喷雾干燥塔(陕西昌泰实业有限公司)。

**1.2 药品与试剂** 丹参素钠对照品(批号: 110855-200506), 原儿茶醛对照品(批号: 110810-200205), 阿

**[收稿日期]** 2007-03-12

**[基金项目]** 国家杰出青年基金资助项目(30325054)

**[通讯作者]** \* 黄熙, Tel: (028) 85423373; E-mail: huangx59@163.

com

魏酸对照品(批号:0773-9910),芍药苷对照品(批号:110736-200424)均购自中国药品生物制品检定所。乙酸为分析纯(西安化学试剂厂),甲醇为色谱纯(天津化学试剂有限公司)。冠心 II 号 5 种药材均购自中日合资西安和汉唐医药公司,均经过陕西省药检所微生物和重金属检测并经浙江医药高等专科学校杨雄志副教授鉴定,丹参为 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的根及根茎;川芎为 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎;赤芍为 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根;红花为 *Carthamus tinctorius* L. 的干燥花;降香为 *Dalbergia odorifera* T. Chem 的树干心材。

## 2 方法

### 2.1 供试剂的制备

**2.1.1 冠心 II 号汤剂的制备** 精密称取 1 日剂量的冠心 II 号方,丹参 50 g,川芎 25 g,赤芍 25 g,红花 25 g,降香 25 g,加 12 倍水,浸泡 30 min,煎煮 120 min;第二煎煮方法同上,合并两次煎液。用冠心 II 号药材总重量除以所得药液的体积,得其浓度为 0.104 g/mL。

**2.1.2 冠心 II 号干浸膏的制备** 将冠心 II 号药材送往西安碑林药业股份有限公司制作干浸膏。干浸膏 I 的制作分为提取(与汤剂的提取过程相同)、浓缩、喷雾干燥(70 °C)三个部分,得率为 22.86%。干浸膏 II 的制作主要比干浸膏 I 多了两道醇沉(70% 和 80% 乙醇)的工序,为真空干燥(60 °C),得率为 14.29%。

**2.2 色谱条件** Diamonsil(钻石) C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:1% 乙酸-甲醇(70:30);流速:1.0 mL·min<sup>-1</sup>;检测波长:丹参素、原儿茶醛 280 nm,芍药苷 230 nm,阿魏酸 322 nm;室温,进样量 10 μL。

**2.3 对照品溶液的配制** 精密称取丹参素钠、原儿茶醛、芍药苷、阿魏酸对照品各 4.0, 0.3, 3.2, 3.4 mg 分别置于 4 个 50 mL 容量瓶中,加甲醇至刻度线,充分混合后即得丹参素钠标准液 80 μg·mL<sup>-1</sup>、原儿茶醛标准液 6 μg·mL<sup>-1</sup>、芍药苷标准液 64 μg·mL<sup>-1</sup>、阿魏酸标准液 68 μg·mL<sup>-1</sup>。

## 3 结果

**3.1 标准曲线及线性范围的考察** 精密量取各对照品溶液适量,用流动相分别配制成 6 个浓度梯度的标准工作液,进样 10 μL。以对照品峰面积为纵坐标,进样量(ng)为横坐标进行回归,回归方程,相关

系数,线性范围见表 1。根据信噪比为 3:1 确定各成分的最低检测限(ng)见表 1。

表 1 标准曲线各项参数的结果

样品名称	标准曲线方程	线性范围 (ng)	线性系数 (r)	检测极限 (ng)
丹参素	$Y = 2\ 869.49X + 398.91$	1.51~40.0	0.999 8	1.375
原儿茶醛	$Y = 3\ 378.27X - 259.08$	0.8~25.6	0.999 6	1.027
芍药苷	$Y = 1\ 466.70X + 115.39$	16.0~384.0	0.999 5	1.130
阿魏酸	$Y = 3\ 386.53X - 202.02$	1.8~57.6	0.999 1	0.863

**3.2 精密度和回收率的考察** 日内精密度的考察,将丹参素、原儿茶醛、芍药苷、阿魏酸对照品混合液进样 10 μL( $n = 6$ ),计算日内变异系数 RSD 依次为 3.84%, 2.55%, 4.29%, 3.99%;日间精密度的考察,取上述对照品溶液,按不同天数测定( $n = 6$ ),计算日间变异系数 RSD 分别为 2.46%, 2.64%, 2.63%, 4.82%。

取冠心 II 号汤剂样本,分别加入对照品溶液适量,用 HPLC 法测定其浓度,将其理论值与测得值相比计算回收率,丹参素、原儿茶醛、芍药苷、阿魏酸的回收率分别见表 2。

表 2 加样回收率的测定结果( $n = 3$ )

成分	加入量(ng)	测得量(ng)	回收率(%)	RSD(%)
丹参素	45	45.91	102.00	3.13
	90	90.70	100.78	2.54
	180	179.21	99.56	2.97
原儿茶醛	40	41.00	102.50	1.18
	80	78.03	97.54	1.28
	160	157.02	98.14	1.92
芍药苷	200.00	201.78	100.89	1.05
	400.00	398.24	99.56	2.28
	800.00	792.39	99.05	1.51
阿魏酸	37.00	36.83	99.53	3.96
	74.00	74.35	100.47	2.44
	128.00	125.67	98.18	3.29

**3.3 样品的测定** 精密量取一定量的冠心 II 号汤剂,精密称取一定量的冠心 II 号干浸膏 I、II,分别加入双蒸水,待干浸膏充分溶解后,振荡混匀 1 min, 12 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min,上清液用 0.22 μm 微孔滤膜过滤。稀释后各样本浓度均为 0.01 g·mL<sup>-1</sup>,进样 10 μL,进样量为 0.1 mg 生药,测定结果见表 3。

表 3 冠心 II 号汤剂及其喷雾干浸膏的测定结果( $n = 3, \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )

成分	汤剂	干浸膏 I	干浸膏 II
丹参素	405 ± 3.13	587 ± 6.32	476 ± 2.84
原儿茶醛	14 ± 1.25	32 ± 2.37	15 ± 1.41
芍药苷	1 930 ± 54	1 391 ± 42	450 ± 23
阿魏酸	93 ± 1.17	25 ± 1.36	—

#### 4 讨论

在进行临床随机双盲试验时,汤剂一次煎煮的量有限,长时间储存易变性,难以确定其稳定的得率,难以准确定量,不利于进行临床研究。我们制备的冠心 II 号干浸膏 I 的得率是 22.86%,按 0.75 g/kg 生药量计算,60 kg 的受试者要服下 10.287 g 干浸膏;要进行胶囊剂型的随机双盲实验,每粒胶囊装 0.3 g 时,也至少要服用 35 粒左右的胶囊,不符合临床实际。为了降低得率,我们在干浸膏 I 的制备工艺上又增加了醇沉的工序,得到干浸膏 II,得率降低为 14.29%。

本实验建立了一种恒流的 HPLC 方法,将汤剂和干浸膏两种剂型进行了对比,以丹参素、原儿茶醛、芍药苷、阿魏酸 4 种成分为指标成分(以往研究表明,丹参素、原儿茶醛、芍药苷、阿魏酸 4 种成分可以进入体内,并发挥一定的药理作用<sup>[1-4]</sup>),所以本实验选择这 4 种成分作为指标成分,这也符合方剂质量控制需选择至少两个以上指标成分的国际化的要求<sup>[5]</sup>),同时测定四种成分的含量。

从实验结果可以看出,丹参素和原儿茶醛的含量在干浸膏 I 中最高,干浸膏 II 中次之,汤剂中最低;而芍药苷的含量在汤剂中最高,干浸膏 I 中次之,干浸膏 II 中最低;阿魏酸在汤剂中的含量比干浸膏 I 中多,在干浸膏 II 中未测出阿魏酸。这可能与制备过程有关。在汤剂、干浸膏 I 和干浸膏 II 的制备过程中加水量和煎煮时间是一样的,后两者比汤剂多了一道加热浓缩的工序,即受热时间比汤剂长,水煎液中的丹酚酸类成分分解为丹参素和原儿茶

醛,所以丹参素和原儿茶醛的含量均比汤剂中多,芍药苷和阿魏酸的含量均比汤剂中少。这与我们以前的实验结果相符,即丹参素、原儿茶醛的含量随煎煮时间的延长而增多,芍药苷、阿魏酸的含量随煎煮时间的延长而减少。干浸膏 II 比干浸膏 I 多了醇沉的工序,丹参素、原儿茶醛、芍药苷的含量比干浸膏 I 明显减少,阿魏酸在干浸膏 II 中未测出,这可能是醇沉对以上成分有一定的破坏作用,使之含量减少,阿魏酸尤甚,可能和干燥方式有关,真空干燥对阿魏酸可造成较严重的破坏。综上所述,冠心 II 号汤剂和干浸膏 I 各有优劣,醇沉浓缩的方法对有效成分有影响。对冠心 II 号进行临床随机双盲试验剂型的选择还有待于进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] Chen K, Chui S H, Wang D Y, *et al.* Protective effects of Danshensu from the aqueous extract of *Salvia miltiorrhiza* ( Danshen ) against homocysteine-induced endothelial dysfunction[ J]. *Life Sci*, 2004, 75(26) : 3157-3171.
- [2] Zhou Z, Liu Y, Miao A D, *et al.* Protocatechuic aldehyde suppresses TNF- $\alpha$ -induced ICAM-1 and VCAM-1 expression in human umbilical vein endothelial cells[ J]. *Eur. J. Pharmacol*, 2005, 513(1-2) : 1-8.
- [3] Suzuki A, Kagawa D, Fujii A, *et al.* Short and Long-Term Effects of Ferulic Acid on Blood Pressure in Spontaneously Hypertensive Rats[ J]. *American Journal of Hypertension*, 2002, 15: 351-357.
- [4] Ishida H, Takamatsu M, Tsuji K, *et al.* Studies on active substances in herbs used for oketsu (“stagnant blood”) in Chinese medicine. VI. On the anticoagulative principle in paeoniae radix[ J]. *Chem. Pharm. Bull.*, 1987, 35(2) : 849-852.
- [5] Harada M, Ogihara Y, Kano Y, *et al.* *Material Medicin A Concise Guide*, Mordem Drug Press, Taipei, Republic of China. II. *Lvakuhiin Kenkyu*. 1988. 19: 852-856.