

冠心病七味片鉴别方法研究

李卓明¹, 黄鸣清¹, 吴燕红¹, 顾 锐², 周长凤², 赵学军¹, 苏子仁¹

(1. 广州中医药大学, 广东 广州 510405;

2. 内蒙古福瑞中蒙药科技股份有限责任公司, 内蒙古 呼和浩特 010020)

[摘要] 目的: 考察三大色谱法鉴别冠心病七味片的各味药材。方法: 采用 TLC、GC、HPLC 法对冠心病七味片方中药材进行鉴别。结果: 制剂中丹参、降香、广枣、山柰可采用 TLC 鉴别, 丹参、降香、肉豆蔻、山柰可采用 HPLC 鉴别, 含挥发性成分的檀香、肉豆蔻、山柰可采用 GC 鉴别。结论: 三大色谱共检出方中七味药材中的六味, 三大色谱结果相互比较和验证, 可以使所获得的信息更趋全面。

[关键词] 冠心病七味片; 薄层分析; 高效液相色谱; 气相色谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2006)03-0029-03

冠心病七味片是著名的蒙药, 由丹参、肉豆蔻、檀香、广枣、山柰、降香、沙棘七味中药组成, 用于治疗冠心病、心悸心痛、心绞痛等症。原有药品标准^[1]既无鉴别, 也无含量测定, 曾有用 TLC 法对冠心病七味片进行丹参、肉豆蔻、檀香的鉴别^[2]。本文采用薄层色谱法、高效液相色谱法、气相色谱法对冠心病七味片各味中药进行鉴别, 并对三大色谱的分析结果进行了综合比较。现将实验结果报道如下:

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Dionex Summit 高效液相色谱仪 (P680 HPLC Pump, ASF-100 Automated Sampled Injector, UVD170U, STH585 Column Oven) Chromeleon 数据处理系统; 美国 VARIAN-3900 气相色谱仪 (FID Detector); 数据处理系统为美国 VARIAN Star Chromatography Workstation Version 6.00; 薄层层析缸 (上海信谊仪器厂)。

1.2 试剂 丹参 (批号: 923-9905)、降香 (批号: 0952-200204)、广枣 (批号: 121334-200401) 等对照药材, 丹参酮 II A (批号: 766-9002)、对甲氧基肉桂酸乙酯 (批号: 0835-9601) 等对照品均购自中国药品生物制品检定所。肉豆蔻、檀香、山柰药材, 由广州中医药大学新药开发中心提供, 经赖小平教授鉴定。硅胶 G 为青岛海洋化工厂生产, 乙腈为色谱纯试剂

(Merck 公司), 其他试剂和试药均为分析纯。

1.3 样品 冠心病七味片 (内蒙古乌兰浩特中蒙制药有限公司提供, 批号: 20030801、20030802、20030803); 方中七味药的缺样样品均由广州中医药大学新药开发研究中心制备。

2 方法与结果

2.1 TLC 法用于丹参、降香、山柰、广枣的鉴别

2.1.1 丹参、降香的薄层鉴别 取本品 10 片, 除去薄膜衣, 研细, 加甲醇 5mL, 密塞, 超声提取 15min, 滤过, 滤液作为供试品溶液。取丹参对照药材 1g, 加甲醇 5mL, 密塞, 超声提取 15min, 滤过, 滤液作为丹参对照药材溶液; 取降香对照药材 0.5g, 同法制备降香对照药材溶液。同法制备缺丹参样品溶液及缺降香样品溶液。另取丹参酮 II A 对照品, 加甲醇制成 1mg/mL 对照品溶液。吸取上述溶液各 5 μ L, 分别点于硅胶 G 薄层板上, 以石油醚 (60~90 $^{\circ}$ C)-醋酸乙酯 (8:3) 为展开剂, 展开, 取出晾干。日光下检视, 供试品色谱中, 在与丹参对照药材及丹参酮 II A 对照品色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点; 缺丹参样品溶液未见上述斑点, 结果见图 1。喷以 1% 香草醛硫酸溶液, 加热至斑点显色清晰, 在与降香对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点, 缺降香样品溶液未见上述斑点。见图 2。

2.1.2 山柰的薄层鉴别 取本品 10 片, 除去薄膜衣, 研细, 加甲醇 5mL, 密塞, 超声提取 15min, 滤过, 滤液作为供试品溶液; 同法制备缺山柰样品溶液; 取对甲氧基肉桂酸乙酯, 加甲醇制成 1mg/mL 对照品

[收稿日期] 2005-03-28

[通讯作者] 苏子仁, Tel: (020) 36585813; E-mail: suziren@msn.

com



图 1 冠心七味片中丹参的 TLC 图谱

1. 丹参酮 IIA 对照品
2. 丹参对照药材
3. 冠心七味片(20030801)
4. 冠心七味片(20030802)
5. 冠心七味片(20030803)
6. 缺丹参样品

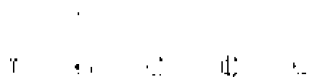


图 2 冠心七味片中降香的 TLC 图谱

1. 降香对照药材
2. 冠心七味片(20030801)
3. 冠心七味片(20030802)
4. 冠心七味片(20030803)
5. 缺降香样品

溶液。另取山柰药材 0.5g, 加甲醇 5mL, 密塞, 超声 15min, 滤过, 滤液作为山柰药材溶液。吸取上述四种溶液各 5 μ L, 分别点于同一硅胶 GF254 薄层板上, 以正己烷-醋酸乙酯(9:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外灯(254nm)下检视。供试品色谱中, 在与对甲氧基肉桂酸乙酯对照品和山柰药材相应的位置上, 显相同颜色的荧光斑点; 缺山柰样品溶液未见上述斑点。(图略)

2.1.3 广枣的薄层鉴别 取本品 10 片, 除去薄膜衣, 研细, 加 70% 乙醇 20mL, 加热回流 30min, 滤过, 滤液蒸干, 加水 5mL 使溶解, 滤过, 滤液用乙醚提取 2 次, 每次 15mL, 合并乙醚液, 蒸干, 残渣加醋酸乙酯 1mL 使溶解, 作为供试品溶液; 同法制备缺广枣样品溶液; 取广枣对照药材 0.5g, 加 70% 乙醇 3mL, 温浸 30min, 滤过, 滤液蒸至干, 加水 5mL 使溶解, 滤过, 滤液用乙醚提取 2 次, 每次 5mL, 合并乙醚液, 蒸干, 残

渣加醋酸乙酯 1mL 使溶解, 作为对照品溶液。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, 以氯仿-丙酮-甲酸(7:2:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置氨蒸气中熏。供试品色谱中, 在与广枣对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点; 缺广枣样品溶液未见上述斑点。

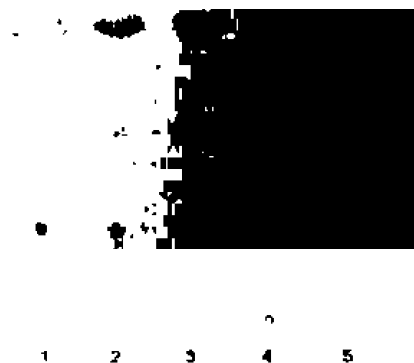


图 4 冠心七味片中广枣的 TLC 图谱

1. 广枣对照药材
2. 冠心七味片(20030801)
3. 冠心七味片(20030802)
4. 冠心七味片(20030803)
5. 缺广枣样品

2.2 HPLC 法用于丹参、降香、肉豆蔻、山柰的鉴别

2.2.1 供试品溶液、对照药材溶液、缺样样品溶液的制备 取本品 10 片, 除去薄膜衣, 研细, 精密称取 1g, 加甲醇 50mL 超声 30min, 滤过, 滤液作为供试品溶液。分别精密称取丹参对照药材、降香对照药材、山柰药材、肉豆蔻药材各 1g, 加甲醇 50mL 超声 30min, 过滤, 滤液过 0.45 μ m 微孔滤膜, 作为丹参对照药材溶液、降香对照药材溶液、山柰药材溶液、肉豆蔻药材溶液; 同法制备缺丹参样品溶液、缺降香样品溶液、缺山柰样品溶液、缺肉豆蔻样品溶液。

2.2.2 色谱条件 色谱柱: Kromasil C₁₈ (4.6mm × 250mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈-水, 梯度洗脱, 程序为
乙腈/水(50/50) $\xrightarrow{0\sim 30\text{min}}$ 乙腈/水(85/15) $\xrightarrow{30\sim 45\text{min}}$
乙腈/水(50/50)

检测波长: 270nm; 流速: 1.0mL/min; 柱温: 25 $^{\circ}$ C。

2.2.3 结果 供试品色谱呈现与对照药材溶液色谱保留时间相同的色谱峰, 缺丹参样品溶液、缺降香样品溶液、缺山柰样品溶液、缺肉豆蔻样品溶液色谱则对特征色谱无干扰。

2.3 GC 法用于檀香、肉豆蔻、山柰的鉴别

2.3.1 供试品溶液、对照药材溶液、缺样样品溶液的制备 取本品 10 片, 除去薄膜衣, 研细, 精密称取约 10g, 精密称定, 置圆底烧瓶中, 加水 200mL, 加少

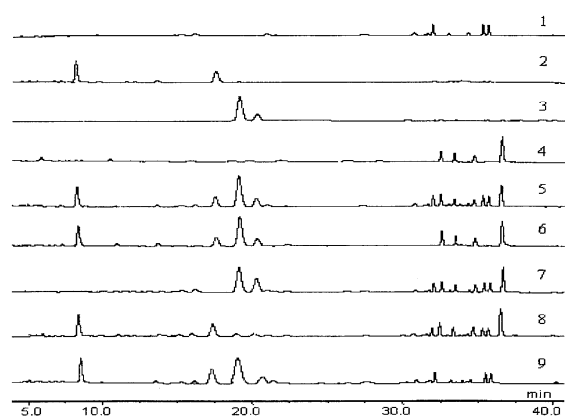


图 5 冠心七味片的 HPLC 图

1. 肉豆蔻药材 2. 降香对照药材 3. 山柰药材
4. 丹参对照药材 5. 冠心七味片 6. 缺肉豆蔻样品
7. 缺降香样品 8. 缺山柰样品 9. 缺丹参样品

量水和 2mL 乙酸乙酯置挥发油微量提取器中, 连续提取 4h, 收集挥发油乙酸乙酯液, 并用乙酸乙酯冲洗冷凝管及挥发油提取器, 合并乙酸乙酯液, 并用乙酸乙酯定容至 10mL, 过 0.45 μ m 微孔滤膜, 滤液作为供试品溶液。分别精密称取檀香药材、肉豆蔻药材、山柰药材各 10g, 同法制成檀香药材溶液、肉豆蔻药材溶液、山柰药材溶液; 同法制成缺檀香样品溶液、缺肉豆蔻样品溶液、缺山柰样品溶液。

2.3.2 色谱条件 色谱柱: 美国 Phenomenex 公司 ZB-YAX 毛细管柱 (30m \times 0.25mm \times 0.25 μ ft), 固定液二甲基硅氧烷, 涂布浓度为 100%; 载气为高纯氮气 (25mL \cdot min⁻¹); 检测器: FID, H₂: 30mL \cdot min⁻¹, Air: 300mL \cdot min⁻¹, 检测器温度为 250 $^{\circ}$ C; 进样口温度: 210 $^{\circ}$ C, 进样量 2 μ L, 分流进样, 分流比为 20: 1。程序升温:

50 $^{\circ}$ C (2min) $\xrightarrow{60^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}}$ 120 $^{\circ}$ C (5min) $\xrightarrow{10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}}$ 150 $^{\circ}$ C (0min)
 $\xrightarrow{60^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}}$ 235 $^{\circ}$ C (13min)

2.3.3 结果 供试品色谱呈现与药材溶液色谱保留时间相同的色谱峰, 缺檀香样品溶液、缺肉豆蔻样品溶液、缺山柰样品溶液色谱则对特征色谱无干扰。

3 讨论

同时用多种色谱法对制剂中同一药味进行鉴别是本实验最大的特色。笔者考察了同时用 TLC、HPLC、GC 鉴别山柰, 用 TLC、HPLC 鉴别丹参、降香, 用 TLC、GC 鉴别肉豆蔻, 期望能充分利用各种现代先进分析技术分析药方中不同药材的整体特征, 更好地提高鉴别的准确性。

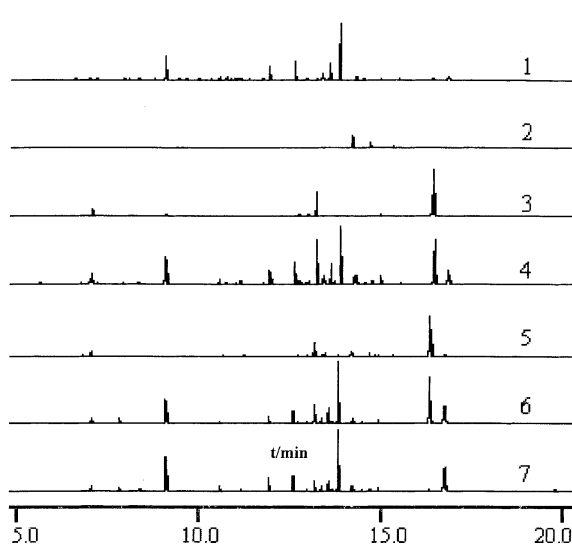


图 6 冠心七味片的 GC 图

1. 肉豆蔻药材 2. 檀香药材 3. 山柰药材
4. 冠心七味片 5. 缺肉豆蔻样品 6. 缺檀香样品
7. 缺山柰样品

薄层色谱法分析的显著优点是迅速获取直观的斑点颜色信息, 同时可借助不同的显色条件丰富了鉴别效能, 但鉴于 TLC 为开放体系, 受环境的影响大, 重复性较差, 对于无荧光、无荧光淬灭、无显色方法的物质的分析显得力不从心。气相色谱法分离效能高, 检测器种类多而且灵敏度高, 但仅限于挥发性成分的鉴别。高效液相色谱法不受样品挥发性的限制, 流动相、固定相可选择的种类多, 检测手段多样, 应用范围广, 但与 TLC 分析相比, 仪器价格高昂, 限制了它的应用, 与 GC 比较, 挥发性成分检测方面技逊一筹。中成药的有效成分包含有挥发性成分和不挥发性成分, 有的成分可在荧光、日光、或显色后观察, 有的成分仅可用紫外检测, 而有的只能用 FID 等质量型检测器检测。对于中成药这一化学复杂的多组分混合体系, 用单一的色谱方法较难获得比较全面的化学成分的信息。不同色谱检测方法结合应用, 相互补充, 可以使所获得的信息更趋全面。在冠心七味片中的尝试, 说明三大色谱方法结合应用, 能更有效地控制制剂的内在质量。

[参考文献]

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准·蒙药分册[S]. 1998. 141.
- [2] 乌云, 林燕. 蒙药冠心七味片质量分析[J]. 中国民族医药杂志, 2002, 8(4): 43.
- [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. 57-58, 184, 23, 32.