

甲亢灵颗粒质量标准研究

高 尚*, 赵迪加, 易志恒, 张佳翼
(湖南安邦制药有限公司, 湖南 长沙 410008)

[摘要] 目的: 建立甲亢灵颗粒(墨旱莲, 丹参, 龙骨等)的质量标准。方法: 采用 HPLC 法对制剂中主药丹参中的丹参素进行定量分析。色谱柱: HYPERSIL# BDS C₁₈ 4.6mm × 200mm; 流动相: 乙腈-水-磷酸(2: 53: 0.5); 检测波长为 280nm。对方中墨旱莲进行薄层色谱检测。结果: 丹参素在 1.06~ 6.36μg 范围内线性关系良好。平均回收率 97.4%。RSD 为 2.1(n=5)。薄层色谱斑点清晰, 阴性对照无干扰。结论: 方法准确可靠, 专属性强, 结果稳定, 重复性好, 可有效控制制剂质量。

[关键词] 甲亢灵颗粒; 丹参素; 质量标准

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)06-0022-03

Study on Quality Standards for Jiakangling Granules

GAO Shang, ZHAO Di-jia, Yi Zhi-heng, ZHANG Jia-yi

(Medicine Research Department of Hunan Anbang Pharmaceutical, Hunan Changsha 410008, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the quality control standards for Jiakangling Granules (Herba ecliptae, Radix salviae miltiorrhizae, Os dragonis etc). **Methods:** HPLC method was developed for the determination of Salvianolic acid A in Jiakangling Granules. The analysis was carried on (HYPERSIL# BDS C₁₈ 4.6mm × 200mm) column eluted with acetonitrile-water-polyphosphoric(2: 53: 0.5) as a mobile phase and detection wavelength at 280 nm. TLC method was developed for the identification of Herba ecliptae. **Results:** The content of salvianolic acid A was linear at the range of 1.06~ 6.36μg, average recovery was 97.40% and RSD was 2.1(n=5). TLC spots clear and specific. **Conclusion:** These methods are accurate and reliable with a smang specificity and can be used for the quality control of Jiakangling Granules.

[Key words] Jiakangling Granules; Salvianolic acid A; Quality standards

甲亢灵颗粒由墨旱莲、丹参、夏枯草、龙骨等中药组成, 功能平肝潜阳、软坚散结。用于具有心悸、汗多、烦躁易怒、咽干、脉数等症状的甲状腺机能亢进症。为了有效地控制其质量, 采用铬黑 T 滴定法对制剂中的钙含量进行定量分析, 并采用 HPLC 法对其主药丹参中的丹参素进行含量测定, 并对墨旱莲进行薄层鉴别。

1 仪器与试药

1.1 仪器 美国 HP 公司 Aglient 1100 高效液相色谱

仪, N2000 数据处理软件, 马弗炉。

1.2 试药 甲醇、乙腈、磷酸均为色谱纯, 水为重蒸水, 其他试剂均为分析纯。硅胶 G(青岛海洋化工厂), TLC 薄层板自制。

1.3 对照品、对照药材 丹参素钠对照品(批号: 110855-200203); 墨旱莲对照药材(批号: 120958-200404)均由中国药品生物制品检定所提供。

1.4 样品 甲亢灵颗粒样品及不含有药味的阴性对照样品由本公司实验室制备。

2 墨旱莲的鉴别^[1]

取本品颗粒研细, 取粉末 1g, 精密称定, 加乙醇 20mL, 浸泡 2h, 超声处理 30min, 滤过, 滤液挥干, 残渣加无水乙醇 1mL 使溶解, 作为供试品溶液。另取

[收稿日期] 2005-08-12

[通讯作者] 高尚, Tel: (0731) 4497070; E-mail: gaos5188@126.com

墨旱莲对照药材 1g, 同法制备对照药材溶液。另按处方配比, 称取除墨旱莲外的其他药材适量, 照制法制成阴性样品, 同供试品溶液制备方法制备阴性样品溶液。吸取上述三种溶液各 4 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以正己烷-醋酸乙酯(9: 1) 为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 置紫外光(365nm) 下检视。供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同的荧光斑点。阴性对照样品无干扰。

3 含量测定

3.1 钙含量测定 本品处方中含有龙骨, 故对样品钙含量进行考察。

3.1.1 指示剂的选择 取经 105 $^{\circ}$ C 干燥至恒重的无水氯化钙 0.1130g, 置 50mL 量瓶中, 加稀盐酸 5mL, 振摇使溶解, 加水稀释至刻度, 摇匀。精密吸取上述溶液 5mL(相当于钙 4.0806mg), 精密加乙二胺四醋酸二钠滴定液(0.05665mol/L) 25mL, 加氨试液 3mL, 铬黑 T 指示剂少量, 用锌滴定液(0.05427mol/L) 滴定至由蓝色变为紫红色, 结果消耗锌滴定液 24.23mL, 相当于钙(Ca) 4.0632mg, 相当于理论量的 99.49%, 表明该指示剂选择可靠。对同批样品进行重复性试验, 结果见表 1。

表 1 重复性试验结果

| 次数 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|----------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 含量(mg/g) | 14.52 | 14.86 | 14.84 | 14.39 | 14.87 |

以上结果表明, 本方法重复性较好。

3.1.2 线性关系考察 取经 105 $^{\circ}$ C 干燥至恒重的无水氯化钙 0.0831g, 置 50mL 量瓶中, 加稀盐酸 5mL, 振摇使溶解, 加水稀释至刻度, 摇匀。精密吸取上述溶液 1.3.5.7.9.11mL, 精密加乙二胺四醋酸二钠滴定液(0.05665mol/L) 25mL, 加氨试液 3mL, 铬黑 T 指示剂少量, 用锌滴定液(0.05427mol/L) 滴定至由蓝色变为紫红色, 以待测液中钙含量(mg) 为纵坐标, 消耗锌滴定液体积(mL) 为横坐标绘制标准曲线。结果表明: 待测液中钙含量在 0.6000~ 6.6003mg 范围内线性关系良好, 其回归方程为: $Y = -0.7684 + 26.079X$ ($r = 0.9998$)。

3.1.3 加样回收率试验 精密量取已测定含量的同一批号(040505) 样品 5 份(含钙 73.50 mg/袋), 每份 1g 左右, 分别加入 105 $^{\circ}$ C 干燥至恒重的无水氯化钙 0.04g, 按上法测定钙含量, 结果见表 3。

表 3 钙加样回收率测定结果

| 编号 | 取样量(g) | 样品中钙含量(mg) | 添加无水氯化钙(g) | 添加无水氯化钙钙相当丁钙(mg) | 实测钙含量(mg) | 回收率(%) | 平均回收率(%) | RSD(%) |
|----|--------|------------|------------|------------------|-----------|--------|----------|--------|
| 1 | 1.0345 | 15.2072 | 0.0419 | 15.1307 | 29.8452 | 96.74 | | |
| 2 | 1.0256 | 15.0763 | 0.0412 | 14.8779 | 29.6277 | 97.81 | | |
| 3 | 1.0513 | 15.4541 | 0.0411 | 14.8418 | 30.0628 | 98.43 | 99.58 | 2.72 |
| 4 | 1.0451 | 15.3630 | 0.0416 | 15.0223 | 30.7153 | 102.20 | | |
| 5 | 1.0369 | 15.2424 | 0.0423 | 15.2751 | 30.9328 | 102.72 | | |

结果表明: 本方法加样回收率较好。

3.1.4 测定样品钙含量, 结果见表 4。

表 4 10 批样品中钙含量测定结果

| 批号 | 040505 | 040510 | 040515 | 040520 | 040605 |
|----------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 含量(mg/袋) | 73.50 | 72.65 | 76.25 | 73.85 | 76.90 |
| 批号 | 040610 | 040615 | 041201 | 041202 | 041203 |
| 含量(mg/袋) | 74.70 | 74.00 | 76.35 | 78.30 | 80.00 |

3.2 丹参素含量测定

3.2.1 色谱条件和系统适应性试验 色谱条件选择 HYPERSIL BDS C₁₈(4.6mm \times 200mm) 色谱柱, 以乙腈水-磷酸(2: 53: 0.5) 为流动相, 检测波长为 280nm; 柱温为室温, 流速 1mL/min。理论板数按丹参素峰计应不低于 2000。丹参素峰与其它峰分离良好, 见图 1 2。

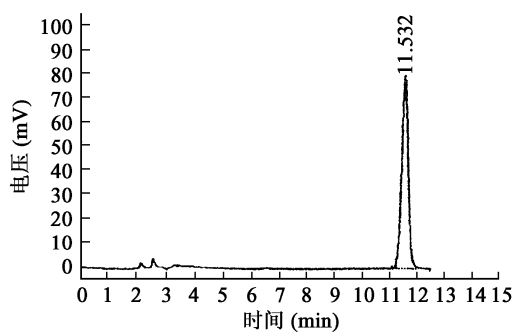


图 1 对照品图谱

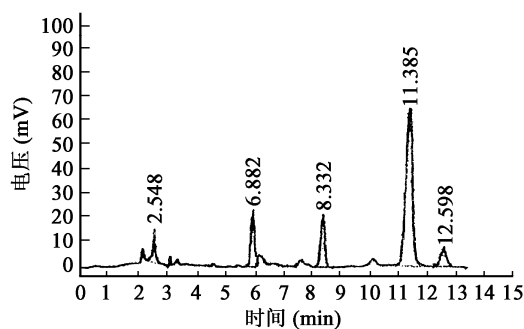


图 2 样品图谱

对照品溶液的制备 精密称取丹参素钠对照品加 50% 甲醇溶解制成 1mL 含 0.53mg 的对照品溶液, 即得。

供试品溶液制备 取本品内容物约 1g, 研细, 精密称定, 精密加入盐酸溶液(1→50) 50mL, 称定重量, 超声处理(功率 250W, 频率 50KHz) 30min, 放冷, 称定重量, 用盐酸溶液补足减失重量, 再加入 5g 氯化钠溶解。摇匀, 滤过, 精密吸取上清液 25mL 置分液漏斗中, 用乙酸乙酯振摇萃取 4 次(50 mL、30 mL、20 mL、20mL), 合并乙酸乙酯液, 置水浴上低温蒸干, 残渣用 50% 甲醇溶解并转移至 10mL 量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45μm) 滤过, 取续滤液, 即得。

缺丹参阴性样品测定 按处方配比, 称取除丹参外的其余各药味适量, 按制法制成缺丹参的阴性样品, 同供试品溶液的制备方法制备缺丹参的阴性样品溶液, 按[含量测定]项下方法试验, 结果表明: 阴性样品的色谱图中在与对照品丹参素色谱图中相同的保留时间处无吸收峰, 说明阴性样品无干扰。见图 3。

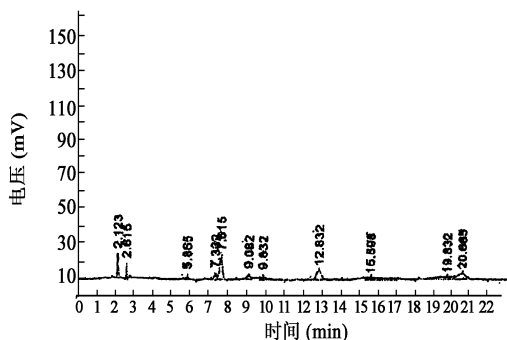


图 3 缺丹参阴性样品图谱

3.2.2 线性关系考察 精密称取丹参素钠对照品溶液(0.53mg/mL), 2、4、6、8、10、12μL 注入高效液相色谱仪, 测定, 以峰面积为纵坐标, 进样量为(μg) 为横坐标绘制标准曲线。结果表明: 丹参素钠对照品在 1.06~ 6.36μg 范围内线性关系良好, 其回归方程为: $Y = 516887 + 25867X$ ($r = 0.9997$)。

3.2.3 精密度试验 吸取对照品溶液, 分别进样 5 次, 每次 5μL, 进行测定, RSD 为 0.14%, 结果表明: 本方法精密度好。

3.2.4 稳定性试验 取同一供试品溶液, 室温放置, 分别于 0、6、12、18、24h 进行测定, RSD 为 1.64%, 结果表明: 供试品溶液在 24h 内峰面积值基本稳定。

3.2.5 丹参素重复性试验 取同一批号(040505) 样品 5 份, 依法测定, RSD 为 2.70%, 结果表明: 本方法重复性较好。

3.2.6 加样回收率试验 精密量取已测定含量的同一批号(040505) 样品 5 份(含丹参素 42.44mg/袋), 每份 0.5g 左右, 分别加入对照品溶液 2mL(2mg/mL), 依法测定, 结果见表 5。

表 5 丹参素加样回收率测定结果

| 编号 | 取样量 (g) | 样品中含量(mg) | 添加量 (mg) | 实测量 (mg) | 回收率 (%) | 平均回收率 (%) | RSD (%) |
|----|---------|-----------|----------|----------|---------|-----------|---------|
| 1 | 0.5012 | 4.254 | 4 | 8.21 | 98.9 | | |
| 2 | 0.5179 | 4.396 | 4 | 8.36 | 99.1 | | |
| 3 | 0.4733 | 4.017 | 4 | 7.83 | 95.3 | 97.4 | 2.1 |
| 4 | 0.4802 | 4.076 | 4 | 7.88 | 95.1 | | |
| 5 | 0.5050 | 4.286 | 4 | 8.23 | 98.6 | | |

结果表明: 本方法加样回收率较好。

3.2.7 样品含量测定 对 10 批样品进行含量测定, 结果见表 6。

表 6 10 批样品含量测定

| 批号 | 丹参素含量 (mg/袋) | 批号 | 丹参素含量 (mg/袋) |
|--------|--------------|--------|--------------|
| 040505 | 38.2 | 040610 | 35.2 |
| 040510 | 34.5 | 040615 | 34.5 |
| 040515 | 35.5 | 041201 | 30.7 |
| 040520 | 44.5 | 041202 | 29.1 |
| 040605 | 35.6 | 041203 | 29.6 |

4 讨论

本品采用铬黑 T 滴定法作制剂中的钙含量测定法, 采用 HPLC 法作主药丹参中的丹参素含量测定法, 对墨旱莲进行薄层鉴别, 方法简便、快速、准确、重现性好, 在后续研究中将继续丹参素含量考察, 积累数据, 以制订适宜的成品含量限度。

丹参素的转换: 丹参素钠乘以 0.9, 即丹参素含量。

[参考文献]

[1] 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. 306.