引用:刘明智,梁宏,郝旭 . 舒心片的质量标准研究[J]. 湖南中医杂志,2020,36(12):157-159.

舒心片的质量标准研究

刘明智[1],梁 宏[1],郝 旭[2]
(1. 萍乡市食品药品检验所,江西 萍乡,337000;2. 萍乡市中医院,江西 萍乡,337000)

[摘要] 目的:建立中药舒心片中丹酚酸 B 含量的测定方法。方法:采用高效液相色谱法(HPLC)测定舒心片中丹酚酸 B 的含量,色谱柱为 Agilent TC-C_{18}(2)色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),以乙腈-0.1%的磷酸溶液(25∶75)为流动相;检测波长为 286 nm;柱温为 25℃;流速为 1.0 ml/min。结果:供试品和对照品溶液中丹酚酸 B 与他峰分离度良好;在 0.050~1.642 μg 之间丹酚酸 B 呈良好线性关系,R^2=0.9993,丹酚酸 B 平均加样回收率为 97.58%,RSD=0.25%。结论:经方法学验证,本法可用于舒心片的质量控制。

[关键词] HPLC;舒心片;丹酚酸 B;含量测定
[中图分类号]R246.1 [文献标识码]A DOI:10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2020.12.060

A study of quality standard for Shuxin tablets

LIU Mingzhi[1], LIANG Hong[1], HAO Xu[2]
(1. Pingxiang Institute for Food and Drug Control, Pingxiang 337000, Jiangxi, China;
2. Pingxiang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Pingxiang 337000, Jiangxi, China)

[**Abstract**] Objective: To establish a method for the content determination of salvianolic acid B in the traditional Chinese medicine Shuxin tablets. Methods: To determine the content of salvianolic acid B in Shuxin tablets, high-performance liquid chromatography was performed on an Agilent TC-C_{18}(2) column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) with a mobile phase of acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (25∶75), at a detection wavelength of 286 nm, a column temperature of 25℃, and a flow rate of 1.0 ml/min. Results: The peak of salvianolic acid B was well separated from the other peaks in the solutions of the test article and the reference substance. Salvianolic acid B showed a good linear relationship within the range of 0.050~1.642 μg (R^2=0.9993), and the average recovery rate of salvianolic acid B was 97.58%, with a relative standard deviation of 0.25%. Conclusion: Methodological verification shows that this method can be used for the quality control of Shuxin tablets.

[**Keywords**] high-performance liquid chromatography; Shuxin tablets; salvianolic acid B; content determination

基金项目:江西省萍乡市科技计划项目(2019PY121)
第一作者:刘明智,男,工程师,研究方向:药品分析与质量研究

参考文献

[1] 王振军 . 单味中药及其有效成分保护青光眼视神经作用机制的研究进展[J]. 医药导报,2011,30(1):73-78.
[2] 周剑 . 中医药视神经保护研究进展[J]. 中国中医眼科杂志,2018,28(6):351-355.
[3] 杨帆,吴玲玲,郭秀娟,等 . 青光眼动物模型 DBA/2J 小鼠的眼部特征及组织学观察[J]. 眼科研究,2010,28(2):103-108.
[4] HSIN HUA LIUJOHN G, FLANAGAN. A Mouse Model of Chronic Ocular Hypertension Induced by Circumlimbal Suture[J]. Investigative Opthalmology & Visual Science, 2017, 58(1): 353-361.
[5] 梁远波,江俊宏,王宁利 . 中国青光眼流行病学调查研究回顾[J]. 中华眼科杂志,2019,55(8):634-640.
[6] 郜雪,申颖 . 青光眼药物治疗进展[J]. 内蒙古医科大学学报,2019,41(S1):271-277.
[7] 徐文生 . 青光眼视神经保护治疗的临床研究进展[J]. 现代医学与健康研究电子杂志,2019,3(6):6-7.
[8] 孟庆丽,刘海霞 . 真核生物神经元机械敏感性离子通道的研究进展[J]. 华中科技大学学报:医学版,2014,43(6):715-719.
[9] TAN JCKALAPESI FBCORONEO MT. Mechanosensitivity and the eye: cells coping with the pressure[J]. Br J Ophthalmol. 2006, 90(3): 383-388.
[10] RYSKAMP DAWITKOVSKY PBARABAS Pet al. The polymodal ion channel transient receptor potential vanilloid 4 modulates calcium fluxspiking rateand apoptosis of mouse retinal ganglion cells [J]. J Neurosci, 2011, 31(19): 7089-7101.

(收稿日期:2020-06-23)

舒心片为江西省名老中医王祖德主任中医师的经验方,由丹参、淫羊藿、生晒参三味中药制成,具有补元气、活血脉等功效,已在萍乡市中医院应用于冠心病的辅助治疗多年。舒心片现行质量标准为多年前制定的《江西省食品药品监督管理局医疗机构制剂》[GZJ-0300-(1)-2006],仅有"性状""检查""鉴别"等基础检验项目,根据国家药品监督管理局最新颁布的《医疗机构制剂配制质量管理规范》相关要求,原标准已经不能有效控制其质量。为保障舒心片的临床疗效,该制剂标准亟待增加含量测定项。

丹参能扩张冠状动脉,增加冠脉流量,扩张外周血管,使网织细胞增多,且能抑制血小板凝聚,有抗凝血、抑制血栓形成的作用[1],故其常见于治疗冠心病的药物,也是舒心片处方中的主要饮片。丹酚酸是丹参中含量最为丰富的水溶性物质,也是主要活性物质,研究表明,该类物质能有效增强血小板功能[2]。丹酚酸 B 是丹酚酸类物质中研究最多、含量最丰富的化合物[3],是丹参主要的药效成分。丹酚酸 B 具有抗血小板聚集的作用,能有效延缓动脉硬化的发生[4-5],与舒心片的功效主治相吻合。另据报道,经加热后丹酚酸 B 可降解为丹酚酸 A、丹酚酸 C 等酚酸类物质[6],故可以丹酚酸 B 为指标对丹参多酚酸类制剂进行含量测定,并有广泛报道[7-8]。

本文选取舒心片处方中主要饮片丹参主要化学成分中的丹酚酸 B 为定量指标,采用高效液相色谱法,对其含量测定方法进行研究。

1 仪器与试药

1.1 仪器 Agilent 1200 高效液相色谱仪;Mettler ME-204 型电子天平;Sartorius CP225D 型电子天平。

1.2 试药 丹酚酸 B 对照品(Stanford Chemicals,批号:PF181014-06,含量以 98.66%计);丹参(河北华都药业有限公司,批号:20031410);淫羊藿(河北华都药业有限公司,批号:20031308);生晒参(河北华都药业有限公司,批号:Z2622003)。舒心片(萍乡市中医院,批号:20190303、20180811、20170105、20200306、20200311、20200313)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱为 Agilent TC-C_{18}(2)(4.6 mm×250 mm 5-Micron);以乙腈-0.1%的磷酸溶液(25∶75)为流动相;检测波长为 286 nm;流速为 1.0 ml/min;柱温为 25℃;进样量为 10 μl。理论塔板数按丹酚酸 B 峰计算应不低于 3000。

2.2 溶液制备

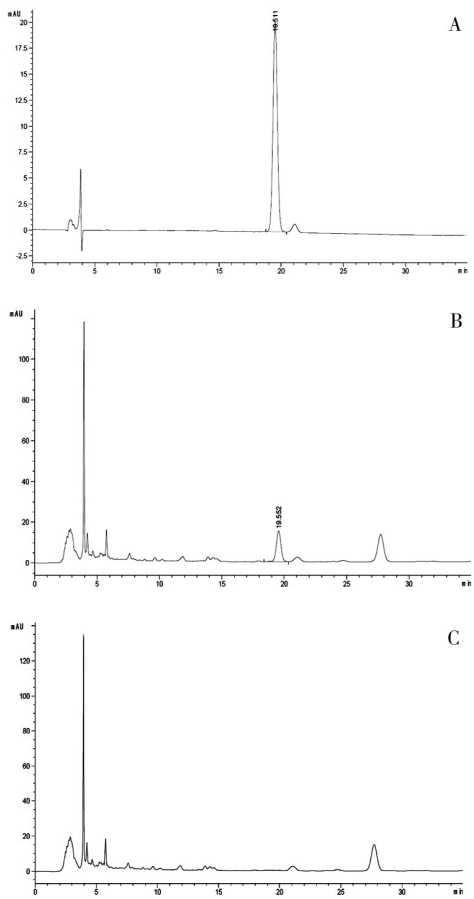
2.2.1 供试品溶液的配制 取本品 10 片,除去包衣,精密称定,研细,取约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 80%甲醇溶液 50 ml,称定重量,超声处理(功率 250W,25kHz)30 min,放冷,再称定重量,用 80%甲醇溶液补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.2.2 对照品溶液的配制 取丹酚酸 B 对照品适量,精密称定,加 80%甲醇制成每 1 ml 含 0.04 mg 的溶液,即得。

2.2.3 阴性(缺丹参)样品溶液的配制 取生晒参 100 g 粉碎成细粉;另取淫羊藿 500 g 加水煎煮 2 次,第 1 次 2 h,第 2 次 1 h,煎液合并,滤过,滤液浓缩至相对密度为 1.20~1.25(60℃),加乙醇使含醇量达 60%,静置 48 h,取上清液回收乙醇,浓缩至相对密度为 1.22~1.25(60℃)的清膏,加入人参细粉及辅料适量,混匀,即得,即得对照样品。取上述阴性对照样品研细,取约 5.0 g,精密称定,按"2.2.2"项下供试品溶液的制备方法制备阴性(缺丹参)对照品样品溶液。

2.3 方法学考察

2.3.1 系统适用性实验 取对照品溶液、供试品溶液及对照样品溶液,按"2.1"项下色谱条件测定,比较对照品色谱、供试品溶液色谱和阴性对照样品溶液色谱,结果供试品中丹酚酸 B 色谱峰与杂质色谱峰分离良好,主峰理论踏板数按丹酚酸 B 计为 14716。(见图 1)



注:A—对照品;B—供试品;C—阴性(缺车前草)对照样品。

图 1 高效液相色谱图

2.3.2 线性关系考察 取丹酚酸 B 对照品适量,精密称定,置 25 ml 量瓶中,加 80%甲醇溶液溶解并稀释至刻度,摇

匀,分别精密量取适量,用 80% 甲醇溶液稀释至浓度为 3.61、20.05、41.04、72.58、153.39 μg/ml 的溶液,作为对照品溶液。分别精密吸取上述不同浓度的对照品溶液各 10 μl 注入液相色谱仪,按"2.1"项下色谱条件测定,以为峰面积横坐标,进样浓度为纵坐标,得线性方程 Y = 0.0913X - 0.697,R^2 = 0.9993。其中 X 为峰面积(mAu.s),Y 为丹酚酸 B 的浓度(μg/ml)。结果显示丹酚酸 B 在 0.050 ~ 1.642 μg 之间呈现良好的线性关系。

2.3.3　重复性实验　取同一批号(批号:20190303)样品共 6 份,精密称定,按"2.2.1"项下方法制备供试品溶液,测定丹酚酸 B 的含量,计算得丹酚酸 B 含量的 RSD 为 0.41%,表明该方法重现性良好。

2.3.4　精密度实验　精密吸取"2.3.2"项下含丹酚酸 B 41.04 μg/ml 的对照品溶液,按"2.1"项下色谱条件,重复进样 6 次,结果丹酚酸 B 峰面积的 RSD 为 0.23%。表明精密度良好。

2.3.5　稳定性实验　取供试品(批号:20190303)适量,按"2.2.1"项下方法制备供试品溶液,室温保存,按"2.1"项下色谱条件,分别于 0、3、6、9、18 h 精密吸取 10 μl 进样,测定丹酚酸 B 的峰面积,测得丹酚酸 B 峰面积的 RSD 为 0.38%,结果表明供试品溶液在室温下 18 h 内稳定。

2.3.6　加样回收实验　采用加样回收实验,精密称取已知含量的本品(批号:20190303)适量,置具塞锥形瓶中,精密加入"2.3.2"项下含丹酚酸 B 41.04 μg/ml 的对照品溶液 15 ml 和 80% 甲醇溶液 35 ml,按"2.1"项下方法实验,计算回收率,结果见表 1。

表 1　丹酚酸 B 回收率实验结果(n = 6)

取样量(g)	测出丹酚酸 B 的量(μg)	供试品中丹酚酸 B 的量(μg)	添加丹酚酸 B(μg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
0.2969	1183.43	598.18	615.6	97.5	97.58	0.25
0.2509	1090.84	505.51		97.3		
0.2775	1147.67	559.09		97.7		
0.2875	1166.07	579.15		97.6		
0.2702	1136.69	544.29		98.0		
0.2935	1175.42	591.20		97.4		

2.3.7　样品测定　取本品 6 批,其中批号 20190303、20180811、20170105 为未采用本方法进行质量控制生产的批号,批号 20200306、20200311、20200313 为采用本方法进行质量控制生产的批号,按"2.2.1"项下方法制备供试品溶液,照"2.1"项下方法进行实验,测定结果见表 2。

表 2　样品测定结果(n = 5)

批号	丹酚酸 B 含量(mg/片)	批号	丹酚酸 B 含量(mg/片)
20190303	0.61	20200306	0.84
20180811	0.45	20200311	0.85
20170105	0.80	20200313	0.84

3　讨　论

3.1　高效液相色谱条件的选择　丹酚酸属弱酸、弱极性物质,在色谱条件优化过程中发现,采用 0.1% 的磷酸溶液能改善丹酚酸 B 的拖尾因子并与其他杂质峰有效分离。使用紫外-可见光分光光度计进行紫外全波长扫描(190 ~ 440nm)发现,286nm 波长处丹酚酸 B 有最大吸收,在此波长下基线噪音小,丹酚酸 B 有良好的信号相应。

3.2　提取方法的选择　丹酚酸易溶于水、甲醇、乙醇,高温易降解,超声提取法能温和、有效地对丹酚酸 B 进行提取。本文采用超声提取的方法,以不同浓度的甲醇溶液(40% 甲醇、60% 甲醇、80% 甲醇、90% 甲醇、甲醇)和不同超声提取时间(10、20、30、40、60 min)对舒心片中丹酚酸 B 进行提取,确定以 80% 的甲醇溶液为溶剂超声提取 30 min 为最优条件。

3.3　舒心片质量探讨　由"2.3.7"项结果得知,不经本方法进行质量控制生产的舒心片中丹酚酸 B 含量差异显著,这主要是丹参饮片的质量差异和生产工艺的不规范所导致的。通过优化丹参饮片采购渠道以规范舒心片生产工艺进后,经本方法进行质量控制的舒心片中丹酚酸 B 含量差异有明显改善。

本研究建立了高效液相色谱法(HPLC)测定舒心片中丹酚酸 B 含量方法,经方法学验证,该方法专属性强,重现性好且简单、高效,可用于舒心片的质量控制,为舒心片标准的进一步提升提供的参考。

参考文献

[1]　国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:129-130.

[2]　万新焕,王瑜亮,周长征,等. 丹参化学成分及其药理作用研究进展[J]. 中草药,2020,51(3):788-798.

[3]　林超,刘兆国,钱星,等. 丹酚酸 B 在心血管疾病中药理作用研究进展[J]. 中国药理学通报,2015,311(4):449-452.

[4]　任正肖,张颖颖. 丹酚酸 B 的化学成分及药理作用的研究进展[J]. 山东化工,2019,48(13):74-75,82.

[5]　陈昕琳,顾仁樾,章怡祎. 丹参多酚酸 B 对动脉粥样硬化大鼠炎症细胞因子的影响[J]. 上海中医药大学学报,2011,25(1):63-67.

[6]　XINGCHU GONG, SHICHAO HUANG, JIANYANG PAN, et al. Modeling of degradation kinetics of salvianolic acid B at different temperatures and pH values[J]. Chinese Journal of Chemical Engineering,2017,25(1):68-73.

[7]　童珂,文庆,李玲,等. HPLC 法测定舒心宁片中丹酚酸 B 的含量[J]. 海峡药学,2016,28(1):55-57.

[8]　许晓君. 高效液相色谱法测定丹参注射液中丹酚酸 B 含量[J]. 长江大学学报:自科版,2017,14(24):4-6.

(收稿日期:2020-03-11)