

复方丹参片的制备工艺优选及含量测定研究

雷燕妮, 张小斌

(商洛学院 生物医药与食品工程学院, 陕西 商洛 726000)

摘要:目的:为了降低温度与水对丹参醇提物的影响,提高丹参中有效成分的溶出率,探讨复方丹参片的最佳制备工艺条件。方法:研究以丹参酮 II A 含量为考察指标,采用乙醇冷浸渗漉法制备复方丹参片,通过 HPLC 法测定其主要成分含量。结果:通过 HPLC 法的测定及对复方丹参片色谱图的数据分析,丹参酮 II A 对照品在 2~16 μ L($r=0.9955$)范围内呈良好线性关系,含量丹参酮 II A 平均回收率为 98.48%,RSD = 1.745%($n=6$)。所测复方丹参片中的丹参酮 II A 平均含量为 0.3 mg \cdot g $^{-1}$ 。结论:所优选的制备工艺提取率高,重复性好,操作流程快速、简单、准确,可供工业化生产借鉴。

关键词:复方丹参片;制备工艺;高效液相色谱法;含量测定

复方丹参片(Compound Salvia Miltiorrhiza Bunge Tablets, CSMT)是一种传统的中药成药品种^[1],由丹参、三七、冰片三味中药组成。每片含丹参 0.450 g、三七 0.141g、冰片 0.008g。其主要含有水溶性的丹酚酸 A、丹酚酸 B、丹参素、原儿茶酸等酚酸类化合物和脂溶性的丹参酮 II A、隐丹参酮、丹参酮 I、二氢丹参酮 I 等二萜醌类化合物及其他结构类型的丹参内酯类、生物碱类等多种化学成分^[2]。具有活血化瘀、理气止痛的功效,我国目前约有 800 个厂家生产该药,年销量大约一百亿片,市场需求量十分大。但是,产品质量具有差异,有效成分含量差别较大。

目前,对复方丹参片的研究比较深入,对其质量控制也有较多研究。自药典收载以来,其生产

工艺及制剂质量比较稳定,且采用高效液相法测定丹酚酸 B(Salvianolicacid B)和丹参酮 II A(Tanshinone II A)的含量,以此来控制制剂的质量^[3]。近几年丹参酮 II A 的研究相对较多,对其理化性质的研究相当成熟,其中脂溶性成分对热敏感,极不稳定。损失程度与加热时温度和时间成正比,如何控制温度和水分因素保证复方丹参片中丹参酮 II A 含量是如今摆在学者面前的难题^[4]。

通过有效手段控制温度和水分因素影响,从而有效保证丹参中丹参酮 II A 活性,进而发挥其生物功能,保证疗效。笔者研究以丹参酮 II A 含量^[5]为考察指标,采用乙醇冷浸渗漉法制备复方丹参片,通过 HPLC 测定其主要成分含量,以期对复方丹参片的制备工艺提供理论依据。

收稿日期:2017-11-07 修回日期:2017-12-20

基金项目:陕西省科教计划项目(2015SF084);商洛学院科研项目(13SKY-FWDF003)。

第一作者简介:雷燕妮(1982-),女,陕西商洛人,理学硕士,副教授,主要从事天然药物的研究与应用。

3 小结与讨论

(1)绵土:河沙:珍珠岩(6:2:1)复配基质效果最好,这是因为绵土营养丰富,又有较高的细度,河沙、珍珠岩提供了较大的孔隙,珍珠岩还提供了湿度,利于插条生根发芽。

(2)穴盘育苗是成本较低、带土坨移栽成活率(90%以上)很高的育苗方式,这和目前苗木育苗提质增效的总体方向相吻合。

(3)穴盘育苗便于规模化生产和标准化操作,在生产中有较好的推广前景。

参考文献:

[1] 段晓明,顾文毅,盛海彦.不同基质对唐古特菔扦插

容器育苗的影响[J].西北林学院学报,2009(06):62-64.

[2] 柴晓杰,王荣中,柴晓格.基于 KG316T 微电脑时控开关控制电脑开关机的实现[J].价值工程,2014(12):41-42.

[3] 李耀龙,季延海,于平彬,武占会,刘明池.基于不同基质理化特性的无土栽培混合基质筛选[J].北方园艺,2016(08):36-40.

[4] 俞王盛,周丽娟,施雪良.水生花卉容器栽培的主要技术环节[J].南方农业(园林花卉版),2010(01):72-73.

[5] 任杰,崔世茂,刘杰才,付崇毅,马博,夏永恒.不同基质对比对黄瓜穴盘育苗质量的影响[J].华北农学报,2013(02):128-132.

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

丹参、三七、冰片均购于商洛市国控大药房;丹参酮IIA对照品(纯度>98%,生产批号:D-008-161212)购于西安玉泉生物科技有限公司;乙腈、甲醇均为分析纯;超纯水为实验室自制水;超声波清洗仪(KQ-250E,昆山市超声仪器有限公司);电子天平(SI-234,丹佛仪器(北京)有限公司);高效液相色谱仪(LC-2010A,日本岛津公司);高速中药粉碎机(XFB-200,吉首市中诚制药机械厂);旋转蒸发器(RE-52,北京科伟永兴仪器有限公司);电热恒温鼓风干燥箱(DHG-9123A,上海齐欣科学仪器有限公司);高压蒸汽灭菌器(MLS-3780,三洋电机株式会社);手摇式单冲压机(TDP,邢台润联科技有限公司)。

1.2 色谱条件

色谱柱:Agilent Eclipse XDB-C1(8150 mm×4.6 mm,5 μ m);流动相:乙腈(A)-0.04%磷酸水(B),梯度洗脱(0~55 min,B相由5%增加至35%;55~75 min,B相由55%增加至74%);流速:1.0 mL·min⁻¹;检测波长:272 nm;柱温:30℃;进样量:10 μ L。理论塔板数以丹参酮IIA计算不应低于3500。

1.3 试验方法

1.3.1 原材料的预处理 取经过净选、淘洗、干燥后的三七,灭菌锅中0.1MPa,121℃灭菌,140℃恒温干燥2 h,烘干,于粉碎机中单独粉碎

成细粉,并过100目筛网,放在阴凉干燥处备用。

1.3.2 样品的制备 先将丹参粗粉加75%乙醇浸渍24 h,渗漉两次。丹参渣于80℃以下烘干并粉碎成丹参细粉。收集的渗漉液滤过,得丹参醇提物,减压回收上清液中的乙醇,浓缩至相对密度1.20(55~60℃)后成丹参醇提物(浓)备用。制备过程中的胶状沉淀物采取适当方法(三七粉混匀)脱水待用。在80℃温度的条件下,将制备后的细粉和三七粉混匀干燥。将浓缩后备用的丹参醇提物,去除结晶颗粒,用胶状物混匀脱水,干燥成颗粒状,制备湿润剂(丹参干颗粒),最后将丹参干颗粒、冰片、沉淀物混合、压制成片,包衣即得。

1.3.3 对照品、供试品溶液的制备 主要有:

(1)对照品溶液制备:用精密仪器称取丹参酮IIA对照品0.004 g,放入装有甲醇溶液的10 mL棕色容量瓶中,根据原定容量定容。制备对照品溶液,其浓度为0.4 mg·mL⁻¹。

(2)供试品溶液制备:将购置复方丹参片10片去糖衣外壳,仪器研磨细碎,量取1 g,放入盛有25 mL甲醇溶液的锥形瓶中,填塞封闭。超声混匀15 min后静置称重。在重量不足的情况下,采用甲醇补足。用0.45 μ m的微孔滤膜过滤取滤液,即为供试品溶液。

1.3.4 测定方法 采用液相色谱法分别记录10微升对照品和供试品溶液的色谱图,供试品色谱,中以丹参酮IIA色谱峰的保留时间为1,得出其他共有峰的相对保留时间。详见图1。

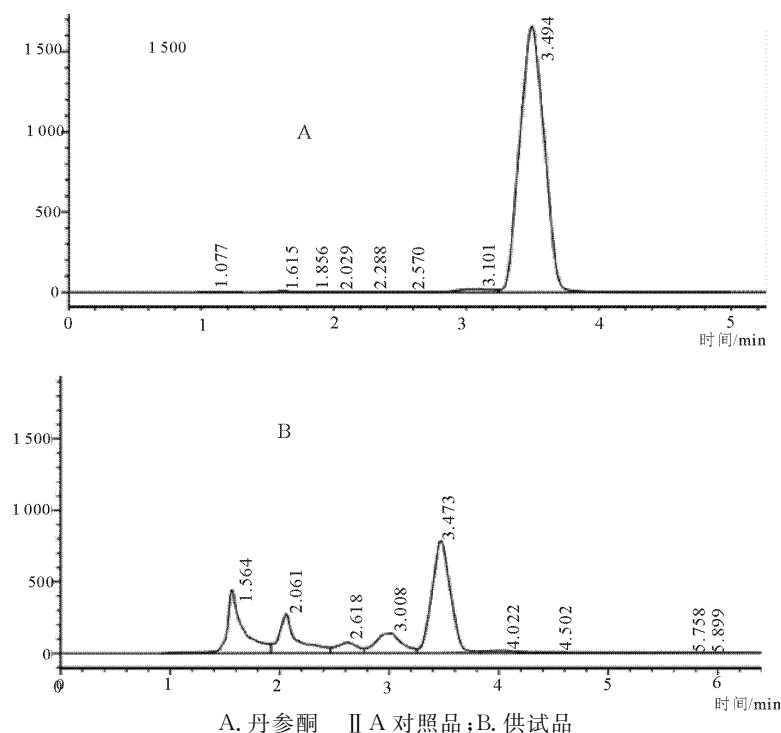


图1 高效液相色谱

1.4 方法学考察

1.4.1 线性关系考察 绘制标准曲线,以不同梯度浓度(2、4、8、12、16 μL)丹参酮 II A 对照品贮备液加样量作为绘制的横坐标(X),以色谱仪量取的峰面积作为绘制的纵坐标(Y)绘制标准曲线。结果丹参酮 II A 对照品在 2~16 μL 范围内呈良好线性关系,回归方程 $Y = 2 \times 10^6 X + 3 \times 10^6$, $r = 0.9955$ ($n = 5$),结果见表 1。

表 1 丹参酮 II A 对照品标准曲线

序号	对照品进样量/ μL	峰面积
1	2	6 147 290
2	4	8 840 796
3	8	17 229 583
4	12	24 369 085
5	16	30 048 266

1.4.2 精密度和重现性试验 在相同条件下,量取对照品溶液 10 μL ,反复 6 次测定,根据丹参酮 II A 峰面积积分值计算,RSD 为 0.81%。同样对更换不同批次供试品样品,每次测定间隔时间为 3 h。则 24 h 内 RSD 为 1.00% ($n = 4$),日间 RSD 为 0.42% ($n = 2$),如果含量明显下降,则说明样品中丹参酮 II A 不稳定,需要在当天测定完所有样品。结果见表 2、表 3。

表 2 精密度试验 ($n = 6$)

序号	峰面积	RSD/%
1	21 214 161	
2	21 225 334	
3	21 248 231	0.81
4	21 259 072	
5	21 247 795	
6	21 251 221	

表 3 重现性试验 ($n = 4$)

序号	峰面积	RSD/%
1	21 214 161	
2	21 225 334	
3	21 248 231	0.81
4	21 259 072	
5	21 247 795	
6	21 251 221	

1.4.3 稳定性试验 稳定性实验以供试品溶液为样品,每次精密测量 10 μL ,时间梯度分别选取 0、2、4、8 h 后进样,最后计算参酮II A 的峰面积。稳定性判定标准为:峰面积的 RSD 为 0.74%, $< 3\%$,结果见表 4。

表 4 稳定性试验 ($n = 5$)

序号	峰面积	RSD/%
0	9 276 497	
2	9 377 051	
4	9 266 513	0.74
6	9 254 396	
8	9 185 464	

1.4.4 加样回收率试验 分别量取上述样品 6 份(每份 0.5 g),按供试品处理方法制备后,制成供试品溶液。分别精密加入一定量的丹参酮 II A 对照品,取 10 μL 测定,用平均值计算回收率。丹参酮 II A 平均回收率 98.48%,RSD = 1.745%,结果见表 5。

1.4.5 样品含量测定 取三批复方丹参片样品,一批 10 片,记录片重。制备平行供试品溶液样品三份,方法同制备样品溶液,用 0.45 μm 滤膜过滤弃掉初滤液后进样。精密吸取对照品溶液和供试品溶 20 μL ,分别测定峰面积并计算含量,结果见表 6。

2 结果与分析

从图 2 可见,丹参酮 II A 保留时间约为 3.5 min,色谱峰分离度好,基线平稳,样品图中也未见干扰组分。

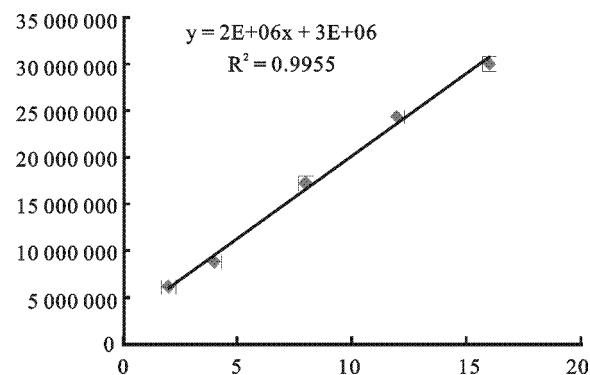


图 2 丹参酮 II A 标准曲线

以进样量(μL)为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),绘制标准曲线,可以得到丹参酮 II A 对照品在 2~16 μL ($r = 0.9955$) 范围内呈良好线性关

系,线性回归方程为 $Y = 2 \times 10^6 X + 3 \times 10^6$, $r = 0.9955$ ($n=5$)。

对照品溶液连续进样六次,以丹参酮 II A 峰面积积分值计算,得到其精密度 RSD 为 0.81%。供试品溶液每隔 3 h 进样一次,可以得到丹参酮 II A 日间 RSD 为 0.42% ($n=2$),而之后含量不断明显下降,24 h 内的 RSD 为 1.00% ($n=4$),说明丹参酮 II A 不稳定。

在不同时间段后,分别取 0、2、4、6、8 h 后进

供试品溶液样品,最后计算丹参酮 II A 峰面积的 RSD 为 0.74%, < 3%,表明供试品溶液在 8 h 内基本稳定。

称取已测知含量的样品 6 份,每份约 0.5 g,制成供试品溶液。分别精密加入一定量的丹参酮 II A 对照品,取 10 μ L 测定,用平均值计算回收率可得丹参酮 II A 平均回收率 98.48%, RSD = 1.745%。

表 5 样品加标试验 ($n=6$)

序号	样品含量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
1	0.2896		0.3282	99.0		
2	0.2957		0.3341	96.0		
3	0.2718	0.04	0.3115	99.3	98.48	1.745
4	0.3163		0.3566	100.8		
5	0.3119		0.3514	98.8		
6	0.2890		0.3278	97		

表 6 复方丹参片成分含量测定

序号	1	2	3
含量/(mg · 片 ⁻¹)	0.2957	0.2718	0.3163
RSD/%	0.52	0.69	0.52

通过峰面积,运用外标法进行含量测定,求得所测复方丹参片中的丹参酮 II A 平均含量为 0.3 mg · g⁻¹,符合 2015 年版药典对其含量的要求。

3 结论与讨论

采用乙醇冷浸渗漉法提取丹参有效成分制备复方丹参片。通过 HPLC 方法对含量进行了测定,结果表明:被测成分的色谱峰分离度好,基线平稳。丹参酮 II A 对照品在 2 ~ 16 μ L ($r = 0.9955$) 范围内呈良好线性关系。精密度良好, RSD 为 0.81%。丹参酮 II A 平均回收率为 98.48%, RSD = 1.745% ($n=6$)。所测复方丹参片中的丹参酮 II A 平均含量为 0.3 mg · g⁻¹,含量较高。所使用制备方案优良,并相应的减少了温度与水分的影响,结果可靠,方法简单,操作容

易。

参 考 文 献:

- [1] 国家药典委员会,中国药典一部[M].北京:中国医药科技出版社,2015:1 214-1 215.
- [2] 刘艾林,李铭源,王一涛,等.丹参药理学活性物质基础研究现状[J].中国药学杂志,2007,42(09):641-646.
- [3] 刘春娟.复方丹参片质量评价体系研究[D].济南:山东中医药大学,2013.
- [4] 王方升.复方丹参片生产工艺改进研究[J].上海医药,2003(12):558-559.
- [5] 黄思勇,金显平.复方丹参片丹参酮类化合物含量测定[J].安徽农业科学,2016(33):121-122.