

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2018.20.006

精制冠心病片中降香组分的检测方法研究*

袁航, 陈安珍[△], 吴爱英, 卢京光

(山东省青岛市食品药品检验研究院, 山东 青岛 266073)

摘要:目的 建立一种可同时检测降香挥发油及水溶性成分的方法, 实现精制冠心病片中降香药味的质量控制。方法 采用硅胶G板为薄层板, 以石油醚(60~90℃)-乙酸乙酯(8:3)为展开剂, 同时检测降香中挥发油和水溶性成分; 采用气相色谱法, HP-5毛细管柱(30 m×0.32 mm, 0.25 μm), FID检测器, 以反式橙花叔醇为检测指标, 对降香挥发油的检测结果作进一步确证。结果 采用薄层色谱法可实现一个色谱条件同时检测降香挥发油和水溶性成分, 方法比移(R_f)值适中, 各组分斑点分离度良好; 气相色谱法中反式橙花叔醇与其他组分分离度良好, 检出限为0.105 μg/g, 检测灵敏度高, 能快速、有效地对降香挥发油的检测结果进行进一步确证。结论 该试验中建立的方法可实现对精制冠心病片中降香药味的质量控制, 为进一步规范降香的投料和生产工艺提供了依据。

关键词:精制冠心病片; 降香; 挥发油; 水溶性成分; 薄层色谱法; 气相色谱法

中图分类号: R932; R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1006-4931(2018)20-0016-03

Study on Detection Method of *Lignum Dalbergiae Odoriferae* in Jingzhi Guanxin Tablets

Yuan Hang, Chen Anzhen, Wu Aiyong, Lu Jingguang

(Qingdao Municipal Food and Drug Inspection Institute, Qingdao, Shandong, China 266073)

Abstract: Objective To establish a method for simultaneous detection of volatile oil and water-soluble component of *Lignum Dalbergiae Odoriferae* in Jingzhi Guanxin Tablets, in order to control the quality of *Lignum Dalbergiae Odoriferae* in Jingzhi Guanxin Tablets. **Methods** Silica gel G plate was taken as thin layer plate, petroleum ether(60 - 90 °C) - ethyl acetate(8 : 3) was taken as developer, volatile oil and water-soluble component of *Lignum Dalbergiae Odoriferae* were identified simultaneously. The detection results of volatile oil of *Lignum Dalbergiae Odoriferae* were further verified by GC with HP-5 capillary column(30 m×0.32 mm, 0.25 μm) and FID detector with trans-nerolidol as the detection index. **Results** Volatile oil and water-soluble component of *Lignum Dalbergiae Odoriferae* could be detected simultaneously under a same TLC condition with moderate R_f value and good separation degree. The trans-nerolidol was separated absolutely from other component by GC method, LOD was 0.105 μg/g, and the GC method has high sensitivity and could be used to verify the TLC detection results of volatile oil of *Lignum Dalbergiae Odoriferae* rapidly and effectively. **Conclusion** The established method can realize the quality control of *Lignum Dalbergiae Odoriferae* in Jingzhi Guanxin Tablets and provide a basis for further regulation of the feeding and production process of *Lignum Dalbergiae Odoriferae*.

Key words: Jingzhi Guanxin Tablets; *Lignum Dalbergiae Odoriferae*; volatile oil; water-soluble component; TLC; GC

精制冠心病片由丹参、降香、赤芍、川芎、红花5味中药组方, 具有活血化瘀的功效, 现行标准收载于2015年版《中国药典(一部)》, 该标准中包括丹参、赤芍、川芎和红花的薄层色谱鉴别项及丹参、赤芍的含量测定项^[1], 但缺少降香的质量控制方法, 无法考察降香药味投料及质量。降香为豆科植物降香檀 *Dalbergia odorifera* T. Chen 树干和根的干燥心材, 有化瘀止血、理气止痛功效, 主要有效成分为挥发油和水溶性黄酮类成分^[2-3]。现代药理研究表明, 降香有抗急性心肌缺血、抗凝血、舒张血管、增加冠脉流量、抗炎及镇痛等作用^[4-5]。在精制冠心病片生产工艺中, 降香首先提取挥发油, 并将水提液同时入药。中药复方配伍是中药复方(中成药)的关键^[6]。

有研究表明, 降香挥发油和水提物与丹参配伍均可增强丹参的药效^[7], 故降香的质量优劣、是否足量投料及是否按工艺生产, 对精制冠心病片的质量及临床疗效均有较大影响。由于法定标准中降香药味质控指标的缺失, 且降香价格昂贵, 会有不法企业为降低生产成本, 提高利润, 不惜违反生产工艺, 降香不投料或不经提取挥发油直接水提入药, 严重影响精制冠心病片的临床疗效。本试验中建立了可同时检测降香挥发油和水提极性成分的薄层色谱法, 并采用气相色谱法验证降香挥发油成分, 本方法的建立, 可同时考察企业是否按法定工艺投料及生产, 进一步完善精制冠心病片的质量标准体系, 为精制冠心病片中降香的质量控制提供依据。现报道如下。

*基金项目: 中国食品药品检定研究院中青年基金[2013WA8]。

第一作者: 袁航, 女, 硕士研究生, 药师, 研究方向为中药质量评价与分析, (电话)0532-58759197(电子信箱) silence580@163.com。

[△]通信作者: 陈安珍, 女, 硕士研究生, 副主任药师, 研究方向为中药质量评价与分析, (电话)0532-58759172(电子信箱) 87666368@163.com。

1 仪器与试药

1.1 仪器

Agilent 7890A 型气相色谱仪(FID 检测器, 美国 Agilent 公司); DB-5 毛细管柱(30 m×0.32 mm, 0.25 μm, 美国 Agilent 公司), HP-5 毛细管柱(30 m×0.32 mm, 0.25 μm, 美国 Agilent 公司), FB-5 毛细管柱(30 m×0.32 mm, 0.25 μm, 美国菲罗门公司); AS10200BT 型超声波清洗器(天津 Auto Science 公司); 硅胶 G 薄层板(德国 Merck 公司)。

1.2 试药

降香对照药材(批号为 120952-201108, 中国食品药品检定研究院); 反式橙花叔醇(批号为 BCBP5327V, 西格玛奥德里奇公司, 质量浓度为 0.876 g/mL); 石油醚(40~60℃, 色谱纯, 德国 Merck 公司), 乙醇(99.8%, 色谱纯, 北京百灵威科技有限公司), 甲醇(色谱纯, 德国 Merck 公司); 精制冠心病片为 2015 年国家评价性抽验样品, 共 47 批次。

2 方法与结果

2.1 降香挥发油及水溶性成分薄层色谱鉴别

2.1.1 溶液制备

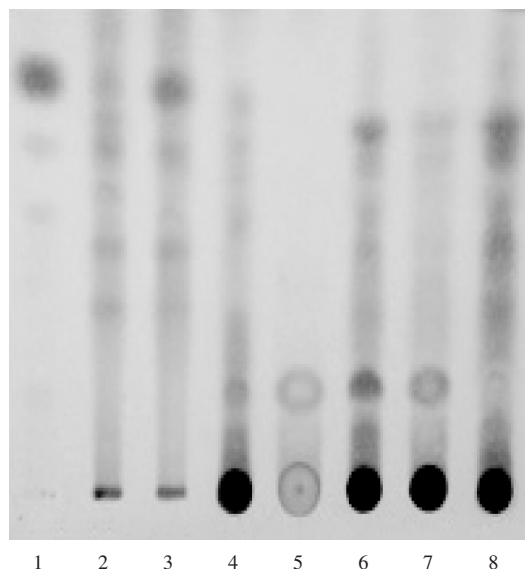
供试品溶液: 取样品 10 片, 除去包衣, 研细, 加石油醚(40~60℃) 5 mL, 超声处理(功率 250 W, 频率 40 kHz) 30 min, 滤过, 滤液作为降香挥发油测定的供试品溶液; 滤渣挥干残留溶剂, 加甲醇 5 mL, 超声处理(功率 250 W, 频率 40 kHz) 30 min, 滤过, 滤液作为降香水溶性成分测定的供试品溶液。

对照药材溶液: 取降香对照药材 0.3 g, 加石油醚(40~60℃) 10 mL, 超声处理(功率 250 W, 频率 40 kHz) 30 min, 滤过, 滤液作为降香挥发油的对照药材溶液; 滤渣挥干残留溶剂, 加水 20 mL, 超声处理(功率 250 W, 频率 40 kHz) 30 min, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加甲醇 5 mL 使溶解, 作为降香水溶性成分测定的对照药材溶液。

阴性对照品溶液: 取处方中除降香的其他药味, 按处方比例及工艺提取, 制成缺降香的阴性对照品, 按供试品溶液制备方法制得阴性对照品溶液。

2.1.2 薄层色谱条件及检视

精密吸取 2.1.1 项下 3 种溶液各 10 μL, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以石油醚(60~90℃)-乙酸乙酯(8:3)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 1% 香草醛硫酸溶液, 105℃ 加热至斑点显色清晰。供试品溶液色谱中, 在与对照药材溶液色谱相应位置显相同颜色的主斑点; 若挥发油样品在与对照药材溶液色谱相应位置未显相同颜色的主斑点, 则应采用气相色谱法进一步验证; 阴性对照品溶液在与对照药材溶液色谱相应位置无干扰斑点。结果见图 1。



1. 降香对照药材溶液(挥发油) 2-3. 供试品溶液(挥发油类成分)
4. 自制小样 5. 降香对照药材溶液(水提液) 6-7. 供试品溶液(水溶性成分) 8. 阴性对照品溶液

图1 降香薄层色谱图

2.2 降香挥发油气相色谱验证

2.2.1 色谱条件

色谱柱: HP-5 毛细管柱(30 m×0.32 mm, 0.25 μm); 检测器: FID; 进样量: 2 μL; 流速: 1.0 mL/min; 程序升温: 起始温度为 90℃, 保持 3 min, 以 30℃/min 的速率升至 180℃, 保持 6 min, 再以相同速率升至 220℃, 保持 5 min; 进样口及检测器温度: 230℃。

2.2.2 溶液制备

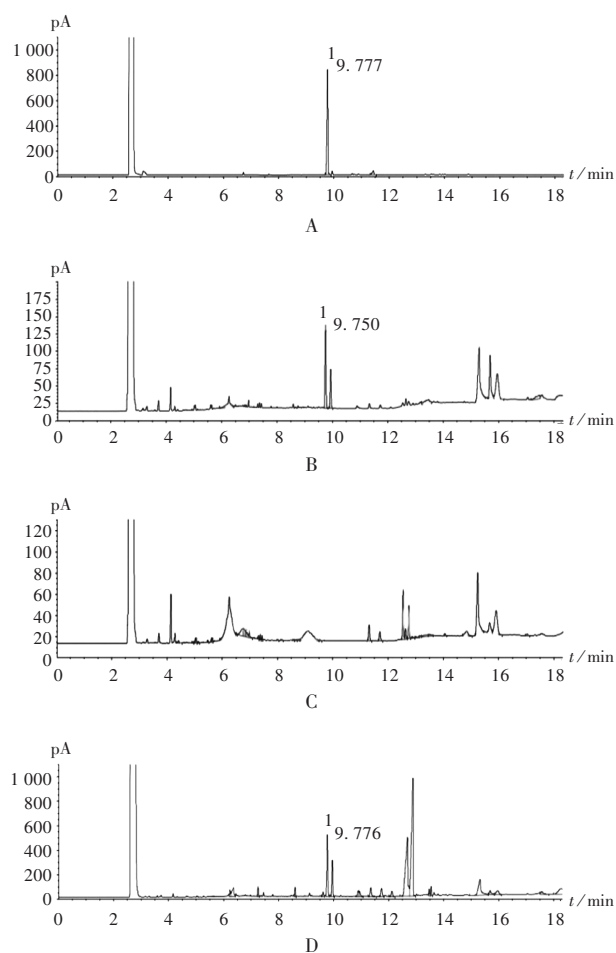
按 2.1.1 项下方法制备供试品溶液、对照药材溶液与阴性对照品溶液; 取反式橙花叔醇对照品 20 μL, 加乙醇溶解并定容至 100 mL, 作为对照品溶液。

2.2.3 方法学考察

检出限确定: 取反式橙花叔醇对照品溶液, 逐级稀释后进样。根据信噪比(S/N)=3 时的溶液浓度, 计算出方法的检出限(LOD)为 0.105 μg/g。

专属性试验: 分别精密吸取反式橙花叔醇对照品溶液、降香挥发油供试品溶液、石油醚提取的阴性对照品溶液, 各 2 μL, 按拟订色谱条件测定。结果见图 2。供试品溶液色谱中, 呈现与对照品溶液色谱峰保留时间基本一致的色谱峰, 阴性对照品溶液在相同保留时间无相应色谱峰, 表明阴性样品对测定无干扰。

耐用性试验: 按拟订色谱条件测定, 考察 DB-5 毛细管柱(30 m×0.32 mm, 0.25 μm) 和 FB-5 毛细管柱(30 m×0.32 mm, 0.25 μm)。结果反式橙花叔醇与其他成分分离度良好, 阴性对照品溶液在与对照品溶液相应位置无色谱峰, 表明该方法的色谱柱耐用性良好。



1. 反式橙花叔醇

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液
C. 阴性对照品溶液 D. 自制小样溶液

图2 降香挥发油气相色谱图

2.2.4 样品检出结果

取47批次样品,依法测定,结果有7个企业的14批次样品检出降香挥发油,占29.79%;4个企业的11批次样品检出降香水提极性成分,占23.40%;其中,仅2个企业的2批次样品同时检出降香挥发油和水提极性成分,占4.26%;7个企业的24批次样品中2种成分均未检出,占51.06%。

3 讨论

本试验中所用47批次精制冠心病片样品分别从生产企业及经营企业抽样,涉及10家企业,分布于全国4个省份,其中吉林省7家,样品覆盖面广,剪表性剪。样品检测结果表明,2批次样品同时检出了降香挥发油成分和降香水提极性成分,且同一厂家的样品批间差异较大,部分批次只检测出了降香挥发油成分或

水提极性成分,部分批次2种成分均未检出。检测结果揭示了部分企业在生产过程中涉嫌违反生产工艺生产或使用伪劣降香药材投料生产等。降香为处方中主要药味,对于精制冠心病片的临床疗效起着关键性作用,而精制冠心病片现行标准中降香质量控制方法的缺失,使部分企业不按法定工艺生产或投料,严重影响药品的有效性。

在精制冠心病片的生产工艺中,降香为首先提取挥发油入药,但对挥发油的量并无要求。因此,为确保挥发油检出结果的准确性,本试验中同时建立了气相色谱法对未检出挥发油的样品进行了进一步确证。有研究表明,降香挥发油的主要成分为反式橙花叔醇^[8-9],且正品与伪品间挥发油的成分差异较大^[10],因此选择以反式橙花叔醇作为降香挥发油的检测指标对降香挥发油进行验证。按照降香足量投料、挥发油提取转移率为0.4%计算,则制剂中含有挥发油的量应为12.5 μg/g,本方法的检出限为0.105 μg/g,因此,按本疗法可检出制剂中的降香挥发油。

本试验中建立的方法可通过同一个色谱条件实现对降香挥发油成分和水提极性成分的同时检测,方法简便、快速、有效,可进一步提高和完善中药制剂的质量标准,为药品监督部门提供了技术支持,以有效打击违法违规行为,保证广大人民群众用药安全有效。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社,2015:76-77.
- [2] Zhao Q, Guo JX, Zhang YY. Chemical and Pharmacological Research Progress of Chinese Drug "Jiang Xiang" (*Lignum Dalbergiae Odoriferae*)[J]. J Chin Pharm Sci, 2000, 9(1): 1-5.
- [3] 郭丽冰,王 蕾. 降香中黄酮类化学成分研究[J]. 中草药, 2008, 39(8): 1147-1149.
- [4] 张 波,李 佳,刘红燕,等. 降香挥发油研究进展[J]. 中国药师, 2014, 17(8): 1403-1406.
- [5] 杨志宏,梅 超,何雪辉,等. 降香化学成分、药理作用及药代特征的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(11): 1679-1683.
- [6] 李 镇,容悦莹,王淑美,等. 中药组方配伍的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(7): 223-226.
- [7] 王世祥,王晓雯,房敏峰,等. 降香和丹参配伍对丹参素药动学的影响[J]. 中国医院药学杂志, 2011, 31(7): 529-531.
- [8] 赵祥升,魏建和,甘炳春,等. GC法同时测定降香中4个成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(3): 392-399.
- [9] 刘海燕,范玫玫,何明珍,等. 降香挥发油的研究进展[J]. 中草药, 2009, 40(11): 1847-1849.
- [10] 曹 利,卢金清,叶 欣,等. 降香及其伪品挥发性成分对比研究[J]. 国际药学研究杂志, 2017, 44(3): 282-287.

(收稿日期:2018-03-01)

本栏目由

重庆赢英康医疗器械有限公司

协办