

· 实验研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.11.009

复方丹七郁胶囊质量标准及其稳定性研究*

谭本仁¹, 郑锦坤¹, 徐晓梅¹, 刘宴林¹, 郭基燕²

(1. 汕头大学医学院附属粤北人民医院, 广东 韶关 512026; 2. 广东省韶关市食品药品检验所, 广东 韶关 512028)

摘要:目的 探讨复方丹七郁胶囊的质量标准及其稳定性。方法 采用薄层色谱(TLC)法对复方丹七郁胶囊中的丹参及三七的主要成分进行定性鉴别,采用高效液相色谱(HPLC)法测定主要成分丹酚酸 B 的含量,采用加速试验和长期试验考察其稳定性。结果 丹参和三七的定性鉴别斑点圆整,分离度好,易于鉴别;丹酚酸 B 质量浓度在 9.94~49.71 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好($r=0.999\ 2$);丹酚酸 B 平均回收率为 99.81%, RSD 为 0.23% ($n=6$);3 批复方丹七郁胶囊经 6 个月加速试验和 12 个月长期试验考察,各项指标均符合质量标准要求。结论 本研究中建立的定性、定量方法操作简便、灵敏度高、重复性好,可作为该制剂的质量控制方法。该制剂在常温下保存稳定性良好。

关键词:复方丹七郁胶囊;丹参;三七;丹酚酸 B;质量标准

中图分类号:R932;R284.1;R286.0

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2019)11-0030-03

Quality Standard and Stability of Compound Danqiyu Capsules

TAN Benren¹, ZHENG Jinkun¹, XU Xiaomei¹, LIU Yanlin¹, GUO Jiyun²

(1. The Affiliated Yuebei People's Hospital of Shantou University Medical College, Shaoguan, Guangdong, China 512026; 2. Shaoguan Institute for Food and Drug Control, Shaoguan, Guangdong, China 512028)

Abstract: Objective To investigate the quality standard and stability of Compound Danqiyu Capsules. **Methods** Qualitative identification was made by TLC method for *Salvia Miltiorrhiza* and *Notoginseng Radix et Rhizoma* in the Compound Danqiyu Capsules. Content determination for salvianolic acid B in the Compound Danqiyu Capsules was carried out by HPLC method. Accelerated test and long-term test were used for evaluating the stability of Compound Danqiyu Capsules. **Results** The results of qualitative identification of *Salvia Miltiorrhiza* and *Notoginseng Radix et Rhizoma* showed that the spots were round, good separation and easy to identify. The salvianolic acid B showed good linearity in the range of 9.94–49.71 $\mu\text{g/mL}$ ($r=0.999\ 2$), the average recovery rate of salvianolic acid B was 99.81% with RSD of 0.23% ($n=6$). The results of six-month accelerated test and 12-month long-term test showed that the quality indexes of three batches of the Compound Danqiyu Capsules were consistent with the regulations of drug quality criteria.

Conclusion The qualitative and quantitative methods established in this study are simple, highly sensitive and reproducible, which can be used for the quality control of this preparation. The preparation has good stability at room temperature.

Key words: Compound Danqiyu Capsules; *Salvia Miltiorrhiza*; *Notoginseng Radix et Rhizoma*; salvianolic acid B; quality standard

复方丹七郁胶囊根据民间老中医临床多年应用的验方及传统中医药理论研制的中药复方新制剂,以丹参、三七、郁金为主药,配以川芎、泽泻、石菖蒲、甘草等多种中药组方,具有补肝肾、活血化瘀、调血脂、抗动脉粥样硬化的功效。丹参有效成分主要有丹参酮、隐丹参酮、丹参酮 II_A 等脂溶性成分^[1-2],以及丹酚酸 A、B、C、D、E 和丹参素等水溶性成分,其中丹酚酸 B 含量最高,是丹参发挥疗效作用的主要成分^[3-5]。本研究中以薄层色谱(TLC)法对复方丹七郁胶囊中丹参主要成分丹参酮 II_A 和三七主要成分三七皂苷 R₁、人参皂苷 R_{g₁}、人参皂苷 R_{b₁} 等进行定性鉴别,采用高效液相色谱(HPLC)法测定复方丹七郁胶囊中丹酚酸 B 含量^[6],并全面考察其制剂稳定性,为控制复方丹七郁胶囊的药品质量提供科学依据。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

LC-2010C 型高效液相色谱仪(日本岛津公司);UV-2450 型紫外分光光度计(日本岛津公司);HT-300BQ 型数控超声波清洗器(济宁恒通超声电子设备有限公司)。

1.2 试剂

三七皂苷 R₁ 对照品(北京索莱宝科技有限公司,批号为 110745-201318);人参皂苷 R_{g₁} 对照品(批号为 110703-201530),人参皂苷 R_{b₁} 对照品(批号为 110704-201424)均由德思特生物有限公司提供;丹参酮 II_A 对照品(北京万佳首化有限公司,批号为 110766-201520);丹酚酸 B 对照品(中国食品药品检定研究院,批号为 111562-201313,纯度为 97.0%);复方丹七郁胶囊(医院制剂,批号分别为 20150903,

*基金项目:广东省中医药局科研项目[20161245]。

第一作者:谭本仁,男,大学本科,副主任药师,研究方向为医院药学,(电子信箱)1114335322@qq.com。

20150909, 20150923)。硅胶 G(供薄层层析用, 青岛海洋化工厂分厂); 甲醇为色谱纯, 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 薄层色谱鉴别

丹参: 取复方丹七郁胶囊内容物 1 g, 精密称定, 溶于 70% 甲醇 10 mL, 超声处理 0.5 h, 滤过, 作为供试品溶液; 另取丹参酮 II_A 对照品适量, 加乙酸乙酯制成质量浓度为 1 g/L 的对照品溶液。照 TLC 法, 精密吸取供试品溶液、对照品溶液各 4 μ L, 点于同一硅胶 G 薄层板上, 以甲苯-乙酸乙酯(19:1)为展开剂, 1% 香草醛硫酸溶液为显色剂, 在 110 $^{\circ}$ C 加热数分钟。供试品溶液色谱中, 在与对照品溶液色谱相应位置上显橙红色斑点。详见图 1。

三七: 取三七药材 0.5 g, 精密称定, 溶于甲醇 5 mL, 超声处理 15 min, 取上清液作为三七对照药材溶液; 另取三七皂苷 R₁、人参皂苷 R_{g1}、人参皂苷 R_{b1} 对照品各适量, 精密称定, 分别加甲醇制成质量浓度为 1 g/L 的对照品溶液。照 TLC 法, 精密吸取供试品溶液、三七对照药材溶液、3 种对照品溶液各 2 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以三氯甲烷-无水乙醇-水(70:45:6.5, V:V:V)为展开剂, 硫酸乙醇溶液(1 $\rightarrow$ 10)为显色剂, 在 110 $^{\circ}$ C 加热数分钟。供试品溶液色谱中, 在与三七对照药材溶液色谱和 3 种对照品溶液色谱相应位置上, 日光下检视显粉红色斑点, 紫外灯(365 nm)下检视显黄色斑点。详见图 2。

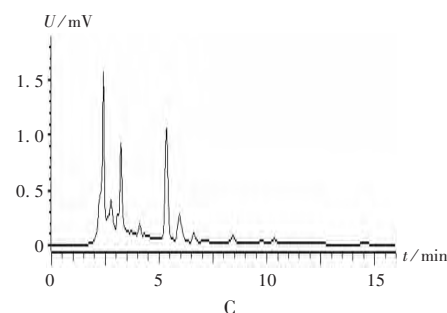
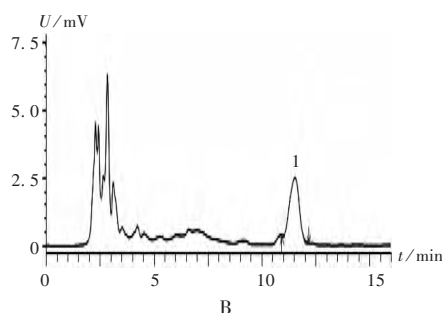
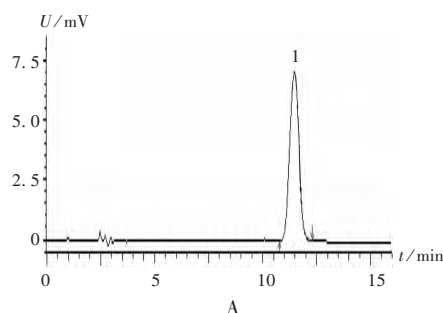
2.2 含量测定

2.2.1 色谱条件

色谱柱: Kromasil 100-5 C₁₈ 柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m); 进样量: 10 μ L; 流动相: 甲醇-乙腈-甲酸-水(10:30:1:59, V:V:V:V); 流速: 1 mL/min; 柱温: 30 $^{\circ}$ C; 检测波长: 286 nm。

2.2.2 溶液制备

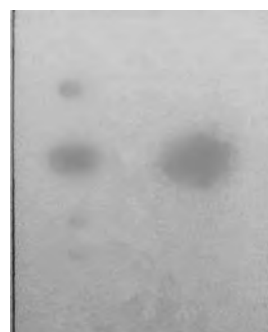
取丹酚酸 B 对照品 10.2 mg, 精密称定, 置 50 mL 容量瓶中, 加甲醇适量, 并超声处理 0.5 h, 取出, 放冷, 并稀释至刻度, 得质量浓度为 0.2 g/L 的对照品溶液。



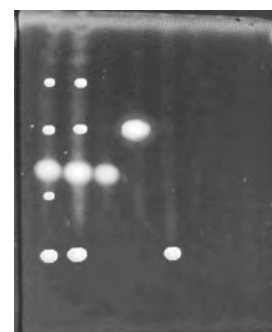
1. 丹酚酸 B

A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照溶液

图3 高效液相色谱图



1. 供试品溶液
2. 丹参酮 II_A 对照品溶液
图1 丹参薄层色谱图



1. 供试品溶液
2. 三七对照药材溶液
3. 三七皂苷 R₁ 对照品溶液
4. 人参皂苷 R_{g1} 对照品溶液
5. 人参皂苷 R_{b1} 对照品溶液
图2 三七薄层色谱图

取复方丹七郁胶囊内容物约 1 g, 精密称定, 置 50 mL 容量瓶中, 加 70% 甲醇适量, 超声 0.5 h, 取出, 放冷, 并稀释至刻度, 用 0.45 μ m 微孔滤膜滤过, 即为供试品溶液。根据复方丹七郁胶囊处方比例制成缺丹参的阴性样品, 按供试品溶液制备方法制备阴性对照溶液。

2.2.3 方法学考察

线性关系考察: 精密量取 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mL 丹酚酸 B 对照品溶液分别置于 10 mL 容量瓶中, 配制一系列对照品溶液, 精密吸取各 10 μ L, 按拟订色谱条件进样测定。以进样质量浓度(X)为横坐标、丹酚酸 B 峰面积积分值(Y)为纵坐标进行线性回归, 得回归方程 $Y = 3540.4X - 2360.2$, $r = 0.9992$ ($n = 5$)。结果表明, 丹酚酸 B 质量浓度在 9.94 ~ 49.71 μ g/mL 范围内与峰面积线性关系良好。

专属性试验: 精密吸取阴性对照溶液适量, 按拟订色谱条件进样测定, 结果在与丹酚酸 B 对照品溶液出峰位置上无相应色谱峰, 表明阴性对照无干扰。色谱图见图 3。

精密度试验: 取丹酚酸 B 对照品溶液, 按拟订色谱条件连续进样 6 次, 每次 10 μ L, 测定含量。结果的 RSD 为 0.05% ($n = 6$), 表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取样品(批号为20150903)适量,依法制备供试品溶液,分别于0,2,4,8,12,24 h时各进样10 μ L。结果的RSD为0.75% ($n=6$),且未出现分层、失水等异常现象,表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

重复性试验:取样品(批号为20150903)适量,平行制备6份供试品溶液,按拟订色谱条件分别进样10 μ L。结果丹酚酸B的平均含量为1.75 mg/g, RSD为0.32% ($n=6$),表明方法重复性良好。

加样回收试验:取已知含量的供试品溶液共6份,分别置10 mL容量瓶中,并精密加入适量的对照品溶液,加70%甲醇定容至刻度,按拟订色谱条件分别进样10 μ L,测定,计算回收率。结果见表1。

2.3 稳定性考察

加速试验:取3批样品,按2015年版《中国药典》原料药与药物制剂稳定性指导原则,置温度(40 ± 2) $^{\circ}$ C、相

表1 丹酚酸B加样回收试验结果($n=6$)

样品含量(μ g/mL)	加入量(μ g)	测得量(μ g)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)
17.00	99.43	98.97	99.54	99.81	0.23
17.00	99.43	99.40	99.97		
17.00	198.85	197.85	99.50		
17.00	198.85	198.77	99.96		
17.00	298.28	298.13	99.95		
17.00	298.28	298.15	99.96		

对湿度(75 ± 5)%条件下贮藏,进行6个月加速试验,按2.2项下含量测定方法检测,并考察外观性状,结果3批样品外观性状无明显变化,其丹酚酸B含量见表2。

长期试验:取3批样品,按2015年版《中国药典(二部)》原料药与药物制剂稳定性指导原则,置温度(25 ± 2) $^{\circ}$ C、相对湿度(60 ± 10)%条件下贮藏,进行12个月长期试验,按2.2项下含量测定方法检测,并考察外观性状。结果3批样品外观性状无明显变化,其丹酚酸B含量见表2。

表2 各批样品稳定性试验结果(mg/g)

样品批号	加速试验					长期试验			
	0月	1月	2月	3月	6月	0月	3月	6月	12月
20150903	1.71	1.71	1.65	1.65	1.64	1.71	1.65	1.64	1.62
20150909	1.62	1.61	1.60	1.60	1.59	1.62	1.60	1.59	1.58
20150923	1.73	1.70	1.71	1.69	1.68	1.73	1.69	1.68	1.65

3 讨论

复方丹七郁胶囊定性鉴别中,参考了2015年版《中国药典(一部)》丹参和三七项下的TLC法^[7],因斑点分散,均对展开剂进行了调整^[8-9],调整后,斑点圆整、清晰、无干扰,分离度好,易于鉴别。

现代药理试验表明,丹参可调血脂,尤其是降低血液中三酰甘油的作用明显^[10-11]。作为复方丹七郁胶囊的主药,其主要活性物质是丹酚酸B,故本研究中选择其作为质量控制的指标性成分,通过参考文献^[12-14],采用HPLC法测定复方丹七郁胶囊中丹酚酸B含量,结果显示,以甲醇-乙腈-甲酸-水(10:30:1:59, V:V:V:V)为流动相,分离效果最佳,峰形对称,阴性对照无干扰,能较好地测定其含量。通过复方丹七郁胶囊的稳定性试验,包括加速试验和长期试验,考察了其外观性状、含量等指标,均无显著变化,说明本品质量稳定。

综上所述,所建立的复方丹七郁胶囊的质量标准,可为复方丹七郁胶囊的质量控制提供参考。

参考文献:

- [1] 谢静. 丹参水溶性成分提取工艺研究[J]. 中国药业, 2009, 18(3): 27-28.
- [2] 谭本仁, 郑锦坤, 徐晓梅, 等. 复方丹七郁胶囊水提取工艺研究[J]. 中医药导报, 2017, 23(7): 49-51.
- [3] 倪力军, 史晓浩, 高秀蛟, 等. 提取时间、溶剂对丹参提取物质量的影响研究[J]. 中成药, 2003, 25(10): 780-782.

- [4] 张昀, 刘路, 李钦. 丹参中丹酚酸B的提取工艺研究[J]. 中草药, 2007, 38(8): 1193-1194.
- [5] 赵辉, 王丽萍, 陈琳, 等. 多指标综合评价优选丹参提取工艺[J]. 中国医药导报, 2014, 11(8): 101-104.
- [6] 刘宴林, 郑锦坤, 徐晓梅, 等. HPLC法测定复方丹七郁胶囊中丹酚酸B的含量[J]. 北方药学, 2016, 13(9): 2-3.
- [7] 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: 901-903.
- [8] 王雪彦, 陈泽莲, 宋毅. 参苓胃炎合剂中丹参的薄层鉴别[J]. 华西药学杂志, 2013, 28(6): 643-644.
- [9] 陈泽凡, 李小梅, 叶玉华. 参七胶囊的制备及质量控制[J]. 中国临床药学杂志, 2005, 14(4): 255-256.
- [10] 杨翠荣. 丹参现代研究概况[J]. 中医临床研究, 2014, 6(14): 147-148.
- [11] 郑琴, 彭常春, 沈美兰. 丹参和三七的配伍研究概况[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(2): 83-86.
- [12] 寇学良, 臧巧真, 龙凯花, 等. 心压平胶囊中丹酚酸B含量测定的方法学研究[J]. 陕西中医, 2015, 36(10): 1427-1428.
- [13] 张英丰, 朱黎霞, 梁东辉. HPLC同时检测丹参提取物中5种水溶性和脂溶性成分含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(11): 76-79.
- [14] 杨道炬, 张怀, 刘树强, 等. HPLC法测定消脂胶囊中丹参酮II_A和丹酚酸B的含量[J]. 中药新药与临床药理, 2014, 25(6): 737-740.

(收稿日期: 2018-08-10)